

ISABELA GOELDNER DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO DA AUTOIMUNIDADE EM PACIENTES COM ARTRITE
REUMATÓIDE E FAMILIARES: UMA ANÁLISE CLÍNICO-LABORATORIAL**

**CURITIBA
2009**

ISABELA GOELDNER DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO DA AUTOIMUNIDADE EM PACIENTES COM ARTRITE
REUMATÓIDE E FAMILIARES: UMA ANÁLISE CLÍNICO-LABORATORIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Shirley Ramos da Rosa Utiyama.

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a. Iara Taborda de Messias-Reason.

**CURITIBA
2009**

Aos meus pais, meus ideais,
Sérgio e Clarinda, por acreditarem sempre
na minha vitória.
Pela confiança, pelo apoio e principalmente
pelo amor incondicional, que me
fortalece a cada dia.
A minha Irmã Juliana,
pelos dias serenos,
pelo companheirismo, pela compreensão e
pelo incentivo constante.

AGRADECIMENTOS

Estas primeiras páginas, e últimas palavras que escrevo neste trabalho, são dedicadas a todas as pessoas que me aconselharam, motivaram, orientaram, cuidaram, ouviram, protegeram e colaboraram ao longo desse período tão proveitoso.

À Prof^a. Dr^a. Shirley Ramos da Rosa Utiyama, orientadora desta dissertação, por todo empenho, sabedoria, compreensão, paciência frente às minhas limitações e, acima de tudo, exigência. Para agradecer à confiança e à amizade as palavras serão sempre poucas;

À Prof^a. Dr^a. Iara José T. de Messias Reason, minha co-orientadora, por ter investido no nosso projeto, pelos conhecimentos transmitidos, pelas críticas construtivas e pelas palavras serenas de incentivo e fé;

À Prof^a. Dr^a. Thelma Larocca Skare pela importante e brilhante colaboração na obtenção das amostras e dados, pelo seu profundo conhecimento e pela humildade e simplicidade com que carrega e disponibiliza este saber. Os meus mais sinceros agradecimentos;

Ao Prof^o. Dr^o. Aguinaldo José do Nascimento e à Prof^a. Marcia Olandoski pelas valiosas sugestões e contribuições na análise estatística do estudo;

À Prof^a. Dr^a. Tania Maria Bordin Bonfim, pelo apoio na aquisição de alguns kits de FAN-HEp2;

Ao Prof^o. e Farmacêutico Bioquímico Renato Nisihara, pelo carinho, incentivo e contribuição na elaboração desta dissertação;

À Dr^a. Angélica B. Winter Boldt pela amizade, grande apoio e incentivos sempre recebidos;

Aos meus pais pelo orgulho que têm de mim, não tendo certeza se fico por isso feliz ou preocupada em estar à altura de tais expectativas, o que me dá muito mais entusiasmo para superar meus limites e satisfazer suas esperanças. Sou o que sou graças a vocês;

A minha irmã Juliana, que sempre me deu bons conselhos, me consolou no desespero e sempre esteve ao meu lado quando precisei (e quando não precisei!);

Aos colegas de mestrado, pelo convívio diário nos estudos, discussões e idéias, e amizade construída;

À Prof^a. e Farmacêutica Bioquímica Flávia, pela amizade e força que superaram a distância;

A todos os funcionários do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR, pela ajuda fornecida sempre que solicitada;

Um agradecimento especial aos profissionais do Serviço de Reumatologia do Hospital Evangélico de Curitiba, que foram “perturbados” com minha constante busca por informações e amostras;

Aos pacientes e seus familiares, a quem espero de alguma maneira ter ajudado;

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas;

À Biometrix pela doação de alguns kits de anti-CCP;

À CAPES pelo fornecimento da bolsa de estudos que garantiu o sustento financeiro necessário à realização desta dissertação de mestrado;

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a execução deste projeto, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS.....	x
LISTA DE GRÁFICOS	xii
LISTA DE SIGLAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 ARTRITE REUMATÓIDE	5
3.1.1 Fatores de Patogenicidade na Artrite Reumatóide	7
3.1.2 Fisiopatogenia da Artrite Reumatóide	10
3.1.3 Manifestações clínicas	17
3.1.4 Avaliação da atividade da doença	18
3.1.5 Diagnóstico da Artrite Reumatóide	20
3.1.6 Fator Reumatóide.....	24
3.1.7 Anticorpo anti-CCP.....	26
3.1.8 Tratamento da Artrite Reumatóide	29
3.2 FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE.....	32
3.3 DOENÇAS AUTOIMUNES E AUTO-ANTICORPOS.....	33
3.3.1 Doenças autoimunes associadas à Artrite Reumatóide	36
3.3.2 Doenças autoimunes em familiares de pacientes com Artrite Reumatóide	38
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 APROVAÇÃO PELO COMITE DE ÉTICA.....	41
4.2 CASUÍSTICA.....	41
4.2.1 Pacientes com Artrite Reumatóide	41
4.2.2 Familiares de pacientes com Artrite Reumatóide	42
4.2.3 Grupo de comparação	45
4.3 METODOLOGIA.....	46

4.3.1	Obtenção das amostras.....	46
4.3.2	Pesquisa de auto-anticorpos	47
4.3.3	Pesquisa do anticorpo anti-peptídio cíclico citrulinado (anti-CCP)	47
4.3.4	Pesquisa do Fator Reumatóide	49
4.3.5	Pesquisa do anticorpo anti-nuclear (FAN)	50
4.3.6	Pesquisa de auto-anticorpos órgão específicos	52
4.3.6.1	Preparo dos substratos.....	52
4.3.6.2	Reações de Imunofluorescência Indireta.....	53
4.3.6.3	Pesquisa do anticorpo anti-endomísio.....	56
4.3.6.4	Preparo do substrato para o EmA-IgA.....	56
4.3.6.5	Reação de IFI para o EmA-IgA.....	56
4.3.7	Correlação clínico-laboratorial	57
4.3.8	Análise estatística.....	57
5	RESULTADOS	59
5.1	ANTICORPO ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR, FAMILIARES E GRUPO DE COMPARAÇÃO.....	59
5.1.1	Positividade para anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares em relação ao sexo	61
5.1.2	Positividade para anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares em relação à idade	61
5.1.3	Positividade para anti-CCP em pacientes com AR e familiares em relação ao grau de parentesco e tabagismo	63
5.1.4	Positividade para anti-CCP em pacientes com AR e familiares em relação aos títulos de anticorpos.....	64
5.1.5	Positividade para FR em pacientes com AR e familiares em relação aos títulos	67
5.2	ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO AOS ANTICORPOS ANTI-CCP E FR	67
5.3	ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO AOS ANTICORPOS ANTI-CCP E FR ..	72
5.4	OUTROS AUTO-ANTICORPOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES ...	74
5.4.1	POSITIVIDADE PARA FAN EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	76

5.5	POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	78
5.5.1	Positividade dos auto-anticorpos AML, AMA, anti-LKM, anti-CGP e EmA-IgA em pacientes com AR e familiares	78
5.6	CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA FAN.....	80
5.7	CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES E FAMILIARES EM RELAÇÃO AOS OUTROS AUTO-ANTICORPOS	80
5.8	OUTRAS DAI PREVIAMENTE DIAGNOSTICADAS NOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES	81
6	DISCUSSÃO	83
6.1	ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	84
6.2	ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES EM RELAÇÃO AOS DADOS DEMOGRÁFICOS	86
6.3	ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR.....	89
6.4	ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR	92
6.5	ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA OUTROS AUTO-ANTICORPOS E ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	94
6.5.1	ANTICORPOS ANTI-NUCLEARES EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	94
6.5.2	AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	97
6.6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
7	CONCLUSÕES	101
	REFERÊNCIAS.....	103
	LISTA DE APÊNDICES	119
	ANEXOS	144

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 -	PARÂMETROS EMPREGADOS NO ÍNDICE SIMPLIFICADO DE ATIVIDADE DE DOENÇA.....	19
QUADRO 2 -	RESUMO DOS ÍNDICES DE AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE DA DOENÇA COM SEUS DIFERENTES VALORES DE CORTE.....	20
QUADRO 3 -	CRITÉRIOS REVISADOS DE CLASSIFICAÇÃO DA ARTRITE REUMATÓIDE	22
QUADRO 4 -	AUTO-ANTICORPOS E RESPECTIVOS SUBSTRATOS ANTIGÊNICOS EMPREGADOS NAS REAÇÕES DE IFI.....	52
QUADRO 5 -	SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE PARA ANTI-CCP, FR E ANTI-CCP/ FR CONCOMITANTES	60
QUADRO 6 -	QUEIXAS APRESENTADAS PELOS FAMILIARES FAN POSITIVOS	80
TABELA 1 -	DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS DOS PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE.....	43
TABELA 2 -	DADOS DEMOGRÁFICOS DOS GRUPOS EM ESTUDO	45
TABELA 3 -	RESULTADO DAS AMOSTRAS DE SOROS PARA O ANTI-CCP DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS	49
TABELA 4 -	DADOS DEMOGRÁFICOS E SOROLÓGICOS DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR	64
TABELA 5 -	DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM AR	68
TABELA 6 -	REGRESSÃO LOGÍSTICA PARA ANTI-CCP $\geq 20U$ COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO	69
TABELA 7 -	DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR ANTI-CCP POSITIVOS ...	73
TABELA 8 -	DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES FR POSITIVOS.....	74

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

FIGURA 1 -	GUILLAUME DE BAILLOU E SIR ALFRED BARING GARROD.....	5
FIGURA 2 -	“O NASCIMENTO DE VÊNUS” DE SANDRO BOTTICELLI (1482) COM DESTAQUE PARA TRAÇOS DE ARTRITE REUMATÓIDE	6
FIGURA 3 -	FATORES ENVOLVIDOS NO DESENCADEAMENTO DA AR	8
FIGURA 4 -	ALELOS <i>HLA-DRB1</i> CODIFICAM SEQUÊNCIA CONSERVADA (QKRAA) NA PAREDE EM α -HÉLICE DOS SÍTIOS DE LIGAÇÃO PEPTÍDICA.....	8
FIGURA 5 -	ARTICULAÇÃO NORMAL	12
FIGURA 6 -	ARTICULAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE.....	12
FIGURA 7 -	MECANISMO DA INFLAMAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE.....	14
FIGURA 8 -	FUNÇÕES DO TNF- α NA ARTRITE REUMATÓIDE	15
FIGURA 9 -	REGULAÇÃO DA DIFERENCIAÇÃO DOS OSTEOCLASTOS NA AR	16
FIGURA 10 -	INFLUÊNCIA GENÉTICA, AMBIENTAL E IMUNOLÓGICA NO INÍCIO E DESENVOLVIMENTO DA ARTRITE REUMATÓIDE.....	18
FIGURA 11 -	NÓDULOS REUMATÓIDES EM COTOVELO	21
FIGURA 12 -	RADIOGRAFIA DE MÃO MOSTRANDO DEFORMAÇÕES GRAVES DA AR EM ESTÁGIO AVANÇADO.....	23
FIGURA 13 -	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EVIDENCIANDO SINOVITE DA 2ª E 3ª ARTICULAÇÕES METACARPOFALANGEAIS E CISTO (SETA) .	24
FIGURA 14 -	FATOR REUMATÓIDE REAGINDO COM PORÇÃO Fc DE IgG.....	25
FIGURA 15 -	REAÇÃO DE CITRULINIZAÇÃO	27
FIGURA 16 -	MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES BIOLÓGICOS.....	31
FIGURA 17 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE ELISA PARA O ANTI-CCP	48
FIGURA 18 -	LEITOR DE ELISA E PLACA UTILIZADA NAS REAÇÕES.....	48
FIGURA 19 -	AGLUTINAÇÃO EM LÁTEX PARA A DETERMINAÇÃO DO FR.....	50
FIGURA 20 -	FAN: PADRÃO NULGEAR PONTILHADO FINO DENSO	51
FIGURA 21 -	FAN: PADRÃO NUCLEAR HOMOGÊNEO.....	51
FIGURA 22 -	PREPARO DOS SUBSTRATOS UTILIZADOS NAS REAÇÕES DE IFI	53

FIGURA 23 - MICROSCÓPIO DE FLUORESCÊNCIA UTILIZADO NA LEITURA DAS REAÇÕES DE IFI	54
FIGURA 24 - IFI PARA ANTICORPO AML.....	54
FIGURA 25 - IFI PARA ANTICORPO AMA	55
FIGURA 26 - IFI PARA ANTICORPO LKM.....	55
FIGURA 27 - IFI PARA ANTICORPO ANTI-CGP	55
FIGURA 28 - IFI PARA ANTICORPO EmA-IgA.....	57
FLUXOGRAMA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS EM ESTUDO NOS DIFERENTES GRUPOS.....	46
FLUXOGRAMA 2 - DISTRIBUIÇÃO DAS DAI PRÉVIAS EM PACIENTES E FAMILIARES.....	82

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES DE ACORDO COM O SEXO	42
GRÁFICO 2 -	DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA ..	44
GRÁFICO 3 -	DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE DE ACORDO COM O GRAU DE PARENTESCO	44
GRÁFICO 4 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR NOS GRUPOS EM ESTUDO.....	60
GRÁFICO 5 -	ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES	60
GRÁFICO 6 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR EM PACIENTES COM AR DE ACORDO COM O SEXO	62
GRÁFICO 7 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR EM FAMILIARES DE ACORDO COM O SEXO	62
GRÁFICO 8 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR DE ACORDO COM A MÉDIA DE IDADE.....	63
GRÁFICO 9 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR DE ACORDO COM O TABAGISMO	65
GRÁFICO 10 -	DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTI-CCP NOS GRUPOS EM ESTUDO.....	65
GRÁFICO 11 -	DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTI-CCP EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES.....	66
GRÁFICO 12 -	POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES DE ACORDO COM A INTENSIDADE DA REAÇÃO	67
GRÁFICO 13 -	PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM CCP \geq 20U COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO	70
GRÁFICO 14 -	PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM FR \geq 30UI/ml COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO	70
GRÁFICO 15 -	PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM CCP \geq 20U E FR \geq 30UI/ml COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO	71

GRÁFICO 16 -	POSITIVIDADE TOTAL DE OUTROS AUTO-ANTICORPOS NOS GRUPOS EM ESTUDO	75
GRÁFICO 17 -	POSITIVIDADE PARA FAN NOS GRUPOS EM ESTUDO	75
GRÁFICO 18 -	FREQÜÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA PARA FAN EM PACIENTES	77
GRÁFICO 19 -	FREQÜÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA PARA FAN EM FAMILIARES	77
GRÁFICO 20 -	AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS NOS GRUPOS EM ESTUDO.....	79
GRÁFICO 21 -	POSITIVIDADE PARA AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS NOS GRUPOS EM ESTUDO	79

LISTA DE SIGLAS

a.C.	- Antes de Cristo
ACR	- <i>American College of Rheumatology</i>
AGS	- Avaliação global de saúde
AIJ	- Artrite idiopática juvenil
AMA	- Anticorpo anti-mitocôndria
AML	- Anticorpo anti-músculo liso
AR	- Artrite Reumatóide
CCP	- Anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado
CBP	- Cirrose biliar primária
CGP	- Anticorpo anti-célula gástrica parietal
CDAI	- Índice clínico de atividade da doença
DAI	- Doença autoimune
DAS	- Índice de atividade da doença
DC	- Doença celíaca
DMARD	- <i>Disease-modifying antirheumatic drug</i>
ELISA	- Enzima imunoensaio
EmA-IgA	- Anticorpo anti-endomísio
FAN	- Anticorpo anti-nuclear
FR	- Fator reumatóide
HAI	- Hepatite autoimune
HLA	- Antígeno leucocitário humano
IAR	- Índice articular de Ritchie
IFI	- Imunofluorescência indireta
IgA	- Imunoglobulina do tipo A
IgG	- Imunoglobulina do tipo G
IgM	- Imunoglobulina do tipo M
IL	- Interleucina
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
LKM	- Anticorpo anti-microsoma de fígado e rim
NK	- <i>Natural killer</i>
NAD	- Número de articulações dolorosas
NAE	- Número de articulações edemaciadas
NOS	- Óxido nítrico sintetase
OR	- <i>Odds ratio</i>
PAD	- Peptidilarginina deiminase
PBS	- Tampão fosfato salino
SDAI	- Índice simplificado de atividade da doença
SE	- <i>Shared epitope</i>
SNP	- Polimorfismo de nucleotídeo único
TNF- α	- Fator de necrose tumoral α
tTG IgA	- Transglutaminase tecidual da classe IgA
VHS	- Velocidade de hemossedimentação

RESUMO

Artrite reumatóide (AR) é uma doença autoimune (DAI) que afeta aproximadamente 1% da população mundial. Familiares de pacientes com AR apresentam risco para desenvolvimento da AR e outras DAI. O diagnóstico adequado é importante para identificação de indivíduos que podem se beneficiar do tratamento precoce e correto. O presente estudo objetivou fazer um amplo perfil de auto-anticorpos em pacientes com AR e familiares do sul do Brasil e associar os achados a dados clínicos, demográficos e à presença de outras DAI. Participaram do estudo 156 pacientes com AR (136♀; 20♂; 24-84 anos), 200 familiares (122♀; 78♂; 7-91 anos) e 100 indivíduos saudáveis como grupo de comparação. Anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado (anti-CCP) e fator reumatóide (FR) foram analisados por ELISA e aglutinação em látex, respectivamente. Anticorpo anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-célula gástrica parietal (CGP), anti-microsoma de rim-fígado (LKM), anti-endomísio (EmA-IgA) e anti-nuclear (FAN) foram determinados por imunofluorescência indireta. Houve elevação significativa do anti-CCP e FR em pacientes, comparados aos familiares e grupo de comparação ($p<0.0001$), enquanto familiares apresentaram diferença significativa para anti-CCP apenas em relação ao grupo de comparação ($p=0.050$). A média dos títulos de anti-CCP não foi diferente entre pacientes e familiares. Familiares positivos foram mais jovens que pacientes em relação ao anti-CCP ($p=0.0081$), FR ($p<0.001$) e anti-CCP/FR concomitantemente ($p=0.0125$), e positividade aumentada para FR e anti-CCP/FR concomitantes foi observada em familiares do sexo feminino ($p=0.067$ e $p=0.082$, respectivamente). Dentre os 11 familiares anti-CCP positivos, duas mulheres positivas para anti-CCP/FR em títulos altos tiveram diagnóstico para AR confirmado e apenas três indivíduos não apresentaram queixas articulares. A análise multivariada dos dados clínicos/ sorológicos resultou em diversas correlações significativas, porém fracas. Entretanto, a regressão logística mostrou chance de reação mais intensa para anti-CCP OR 9.8 pacientes mulheres/ homens, OR 2.7 em tabagistas/ não-tabagistas, OR 7.7 em mulheres tabagistas/ homens tabagistas e OR 5.15 em relação à presença de nódulos reumatóides. Para os demais auto-anticorpos avaliados, 19.9% dos pacientes e 15% dos familiares apresentaram positividade para pelo menos um anticorpo. Em relação ao FAN, 24 pacientes com AR (15.4%) e 19 familiares (9.5%) foram positivos ($p=NS$). Até o momento, nenhum desses indivíduos teve diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico confirmado. Oito pacientes com AR (5.1%) foram positivos para auto-anticorpos órgão-específicos (AML=1, AMA=2, CGP=5) em relação a 6% (12/200) dos familiares (AML=1, AMA=2, CGP=7, EmA-IgA=2), que diferiram significativamente do grupo de comparação (2%; $p=0.036$; AML=1, CGP=1). Os familiares EmA-IgA positivos eram irmãos e apresentavam sintomas de doença celíaca. Os indivíduos positivos eram predominantemente mulheres e estão sob avaliação clínico-laboratorial. Vários pacientes e familiares apresentavam diagnóstico prévio de outras DAI. Os resultados ressaltam o papel dos auto-anticorpos na predição da AR bem como ferramenta de triagem para associações com outras DAI. O diagnóstico precoce é de grande importância na prevenção das co-morbidades e custos sócio-econômicos relacionados a essas doenças debilitantes.

Palavras-chave: autoimunidade, artrite reumatóide, fator reumatóide, auto-anticorpos, anticorpo anti-CCP.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common autoimmune disease (AID), affecting approximately 1% of the world population. Relatives of RA patients are at higher risk of developing the RA or other AID. Precocious and accurate diagnosis of RA is therefore of importance to identify individuals that may benefit from early and more adequate treatment. The present study aimed to evaluate a broad spectrum of auto-antibodies in RA patients and their relatives from southern Brazil, in order to associate the findings with demographic and clinical features as well as the presence of other AID. Serum samples of 156 RA patients (136♀ and 20♂; 24-84 years) and 200 relatives (122♀ and 78♂; 7-91 years) were analyzed. As comparison group, 100 unrelated individuals from the same geographic area were evaluated. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) and rheumatoid factor (RF) were tested using ELISA and latex agglutination, respectively. Antibodies to smooth muscle (SMA), mitochondrial (AMA), parietal cell (PCA), liver-kidney microsome (LKM), endomysium (IgA-EmA) and nuclear antigen (FAN) were determined by indirect immunofluorescence. The results showed significant increase of anti-CCP and RF in patients when compared to relatives and comparison group ($p < 0.0001$), while relatives differ of the comparison group only regarding anti-CCP ($p = 0.050$). The mean titer of anti-CCP was similar in patients and relatives. Positive relatives were younger than patients for anti-CCP ($p = 0.0081$), RF ($p < 0.001$) and both concomitantly ($p = 0.0125$), and increased positivity to RF and anti-CCP/RF concomitants was observed in the female relatives ($p = 0.067$ and $p = 0.082$, respectively). Amongst the 11 anti-CCP positive relatives, two younger female with high titer of anti-CCP/RF had RA diagnosis established and only three individuals presented no joint symptoms suggestive of RA. The multivariate analysis of clinical/ serological data of patients allowed establishment of several significant correlations, although weak. Using logistic regression, a chance of more intense reaction to anti-CCP was *OR* 19.8 in female patients in relation to male, *OR* 2.7 in tobacco users/ non tobacco, *OR* 7.7 in tobacco female/ tobacco male and *OR* 5.15 in relation to the presence of rheumatoid nodules. Considering the other autoantibodies evaluated, 19.9% of RA patients and 15% of relatives presented positivity to at least one autoantibody. Twenty four RA patients (15.4%) and 19 relatives (9.5%) were FAN positive ($p = \text{NS}$). Up to now, none of these individuals had systemic lupus erythematosus diagnosis confirmed. A total of eight RA patients (5.1%) were positive to organ-specific antibodies (SMA=1, AMA=2, PCA=5), similarly to 6% (12/200) of the relatives (SMA=1, AMA=2, PCA=7, IgA-EmA=2), that differed significantly of the comparison group (2%; $p = 0.036$; SMA=1, PCA=1). The two IgA-EmA positive relatives were siblings and presented symptoms of celiac disease. All serological positive individuals were predominantly female and are under clinical/laboratorial evaluation. Several RA patients and relatives presented other AID previously to the present study. In conclusion, the results emphasize the role of auto-antibodies in predicting RA as well as a screening tool to evaluate the association with AID. An early diagnosis can be of great value preventing both co-morbidities and socio-economics costs related to these disable diseases.

Keywords: autoimmunity, rheumatoid arthritis, rheumatoid factor, auto-antibodies, anti-CCP.

1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide (AR) é uma doença inflamatória crônica comum que atinge aproximadamente 1% da população mundial. Caracteriza-se como uma doença autoimune (DAI) progressiva que afeta simetricamente articulações diartrodiais, principalmente punhos e dedos, podendo progredir para articulações maiores, tais como joelhos, ombros e cotovelos (TEHLIRIAN, BATHON, 2008). A AR não tratada adequadamente pode gerar dor e incapacidade física, pode agravar estados depressivos e contribuir de forma significativa para a queda na qualidade de vida dos pacientes (KOJIMA et al., 2009). Seu tratamento baseia-se no uso de drogas antiinflamatórias não-esteroidais, corticoesteróides, drogas antireumáticas modificadoras do curso da doença (DMARD) e agentes imunobiológicos (SHOENFELD et al., 2008).

Sabe-se que a história natural da AR é influenciada por múltiplos fatores prognósticos, incluindo sexo do paciente, idade, história familiar, título de auto-anticorpos, antígeno leucocitário humano (HLA) DR4 e DR1, doenças concomitantes, condições socioeconômicas e ambientais, entre outros (WALDENBURGER, FIRESTEIN, 2008).

Atualmente, diversos estudos têm se voltado à identificação de fatores preditores de doença mais grave, tais como auto-anticorpos como fator reumatóide (FR) e anticorpo anti-peptídio cíclico citrulinado (anti-CCP) que constituem importantes marcadores imunológicos de diagnóstico e prognóstico da AR (GALATI et al., 2008; NELL-DUXNEUNER et al., 2009).

Os anticorpos anti-CCP representam marcadores precoces estando presentes, de forma geral, em formas erosivas e com pior prognóstico (FATHI et al., 2008). Tais auto-anticorpos possuem elevada especificidade e sensibilidade e estão cada vez mais sendo incorporados à prática clínica, a fim de possibilitar um diagnóstico precoce e tratamento adequado da AR o que pode prevenir de forma mais efetiva as morbidades da doença não tratada. (MITTERMAYER et al., 2008).

A concomitância de mais de uma DAI em um mesmo indivíduo tem sido freqüentemente descrita na literatura (ANAYA et al., 2007; ASHERSON et al., 2008; FERRO et al., 2008). Uma provável explicação é o compartilhamento de genes de susceptibilidade em comum, tais como *CTLA-4* e *PTPN22*, que atuam como fatores de risco (ANAYA et al., 2006; SHOENFELD et al., 2008). Tais associações

freqüentemente estão relacionadas a maiores taxas de mortalidade, morbidade, baixa resposta à terapêutica e, muitas vezes, pior qualidade de vida do paciente (JANEWAY ET al., 2007).

Relatos recentes têm demonstrado importante superposição da AR com DAI do fígado, como cirrose biliar primária (CBP) e hepatite autoimune (CARAMELLA et al., 2007). Associações com síndrome de Sjögren, anemia perniciosa, dermatite herpetiforme, doença celíaca (DC) e DAI da tireóide também têm sido evidenciadas e corroboram a importância de estudos de triagem de auto-anticorpos para confirmar tais associações (WANG, LIOU, DUNN, 2001; AYDOG et al., 2006, SOY et al., 2007; ATZENI et al., 2008). Inúmeros auto-anticorpos podem preceder em anos as manifestações clínicas de diferentes DAI, assim como podem constituir indicadores de prognóstico.

Por sua vez, estudos em familiares de pacientes com DAI mostram maior predisposição desses a desenvolver tais doenças quando comparados a indivíduos da população geral (UTIYAMA et al., 2001; ALARCO´N-SEGOVIA et al., 2005; ANAYA et al., 2006; HEMMINKI et al., 2009; KOTZE et al., 2009). Neste contexto, a pesquisa do FR e anticorpo anti-CCP representa um valioso instrumento na detecção precoce da AR nos familiares de pacientes com AR, os quais constituem o principal grupo de risco para desenvolvimento da doença (WALDENBURGER, FIRESTEIN, 2008; MATHSSON et al., 2008; STEUER et al., 2008). MICHOU et al. (2008a) constataram ainda maior prevalência de outras DAI em familiares de pacientes com AR, principalmente naqueles de primeiro grau. A concomitância entre AR e doenças da tireóide, esclerose múltipla, psoríase, *miastenia gravis* e síndrome de Sjögren, entre outras, ressalta a participação dos genes de susceptibilidade e o valor de estudos clínico-laboratoriais nas diferentes populações (ARLEEVSKAIA, SHILKINA, TSIBUL'KIN, 2005; ANAYA et al., 2007).

Considerando-se:

- a) a alta prevalência da AR e o grande impacto econômico, social e psicológico gerado pela invalidez resultante de seus sintomas álgicos e suas deformidades;
- b) os altos custos acarretados ao sistema de saúde pelo tratamento farmacológico e cirúrgico necessários em casos de doença mais grave;

- c) a ausência de relatos do comportamento dos auto-anticorpos na população de AR e de seus familiares do sul do Brasil;
- d) a importância do reconhecimento de outras DAÍ associadas à AR;

justificam-se os estudos que propiciem maior compreensão da fisiopatogenia dessa doença em nosso meio e que possam vir a mudar o manejo clínico de seus portadores através do diagnóstico mais precoce. É neste contexto que se insere a presente pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar um amplo perfil de auto-anticorpos em pacientes com AR e familiares, e associar os dados com aspectos clínicos da doença e presença de outras DAI.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

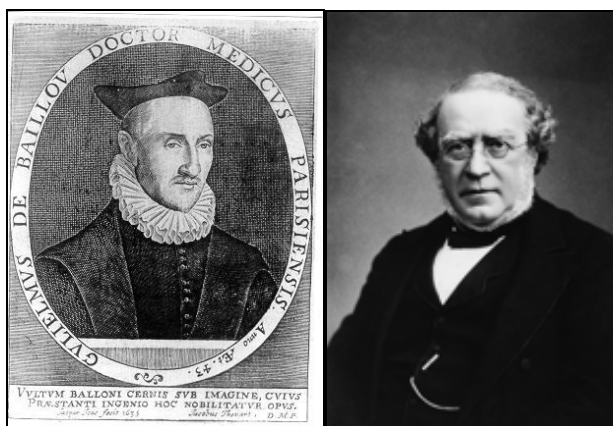
- Determinar a freqüência do anticorpo anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares em relação a indivíduos sadios da população geral;
- Associar a presença de anti-CCP e FR nos pacientes e familiares com dados demográficos e clínicos dos indivíduos;
 - Associar tais dados com parâmetros de gravidade da doença;
 - Investigar a freqüência dos auto-anticorpos anti-nuclear (FAN), anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsoma de fígado e rim (LKM), anti-célula gástrica parietal (anti-CGP) e anti-endomísio (EmA-IgA) em pacientes com AR e familiares;
 - Comparar a prevalência dos auto-anticorpos citados em relação a indivíduos sadios da população geral;
 - Associar os dados dos auto-anticorpos com parâmetros demográficos como sexo e idade, bem como com os dados clínicos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ARTRITE REUMATÓIDE

Os indícios mais antigos da AR foram reconhecidos em esqueletos indígenas datados de 4.500 a.C., encontrados no atual estado norte-americano do Tennessee. O primeiro texto mencionando a AR, escrito em 123 a.C. pelo indiano Caraka Samhita, descrevia uma doença onde o edema e a dor atingiam primariamente as articulações das mãos e pés e, posteriormente, se disseminava pelo corpo, ocasionando perda de apetite e febre. Já em 1591, o médico francês e decano da faculdade de medicina da Universidade de Paris, Guillaume de Baillo, escreveu o primeiro livro específico sobre a AR. Até 1859 a doença ainda não possuía um nome estabelecido, quando então o médico inglês Alfred Baring Garrod introduziu o termo “Artrite Reumatóide” (Figura 1).

FIGURA 1 - GUILLAUME DE BAILLOU E SIR ALFRED BARING GARROD



FONTES: www.sciencetimes.co.kr e <http://rheumatology.oxfordjournals.org>

Apesar desses relatos centenários (Figura 2), a etiologia da AR ainda não está completamente esclarecida. Porém, como em diversas outras DAI, fatores genéticos, imunológicos, hormonais e ambientais estão diretamente envolvidos no seu desencadeamento.

FIGURA 2 - "O NASCIMENTO DE VÊNUS" DE SANDRO BOTTICELLI (1482)
COM DESTAQUE PARA TRAÇOS DE ARTRITE REUMATÓIDE



FONTE: Adaptado de http://www.bergerfoundation.ch/Home/high_botticelli.html

A AR é uma doença autoimune sistêmica comum cuja prevalência em adultos é estimada em 1 - 3% da população mundial sendo aproximadamente três vezes mais freqüente em mulheres (PARADOWSKA et al., 2007). A prevalência da AR varia de acordo com as características étnicas da população, indo de 0,1% em camponeses africanos até aproximadamente 5% em populações indígenas Tlingit, Yakima, Pima e Chippewa (FERUCCI, TEMPLIN, LANIER, 2005). Ao sul da Europa, a taxa de incidência anual da AR é de 16.5 casos/ 10^5 habitantes; já ao norte essa incidência sobe para 29 casos/ 10^5 habitantes. Por sua vez, na América do Norte ocorrem 38 casos/ 10^5 habitantes (ALAMANOS, VOULGARI, DROSOS, 2006). No Brasil, o estudo multicêntrico de MARQUES et al. (1993) verificou prevalência para a AR variando de 0,2% a 1%.

Durante muitos anos a AR foi considerada uma doença de caráter benigno, com prognóstico geralmente bom. Porém, devido aos efeitos deletérios da doença sobre a mobilidade física e a capacidade funcional, pacientes com AR têm sua expectativa de vida significativamente diminuída, em comparação à população geral (SHINOMIYA et al., 2008; UHLIG et al., 2008; LUNDKVIST, KASTANG, KOBELT, 2008). Aproximadamente 50% dos pacientes com AR ficam impossibilitados de trabalhar em 10 anos a partir do início da doença, o que representa um impacto

econômico e social significativo (FELSON, 2008). Por apresentar alto potencial de incapacidade funcional com aumento da morbi-mortalidade dos pacientes, um entendimento maior da etiopatogênese, bem como avanços no arsenal terapêutico com uso de agentes imunobiológicos, vem garantindo melhor controle da AR (FIKE, 1997a; CRISCIONE, St. CLAIR, 2002; LUNDKVIST, KASTANG, KOBELT, 2008).

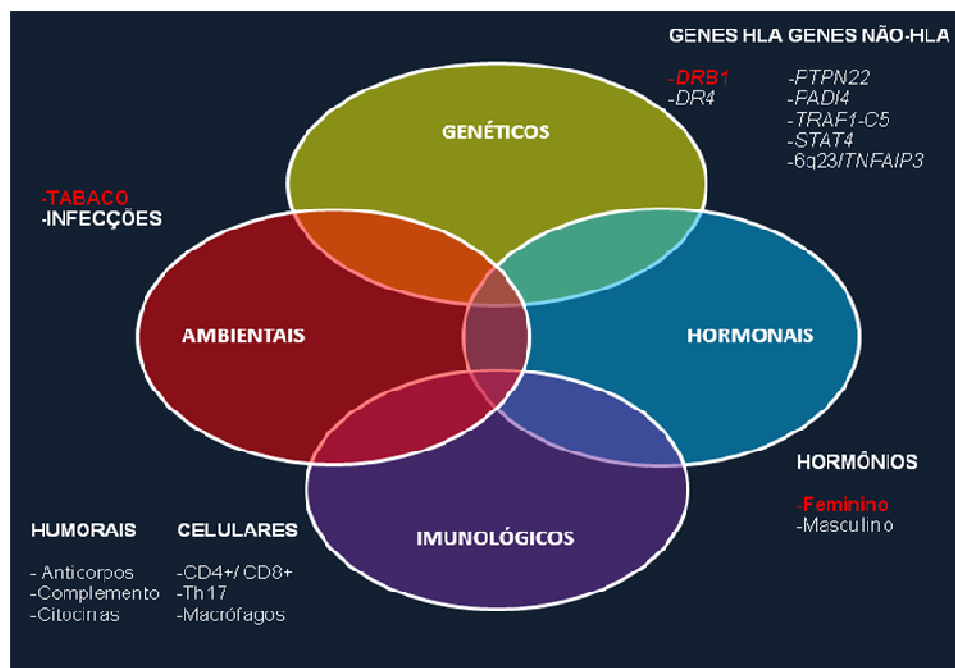
3.1.1 Fatores de Patogenicidade na Artrite Reumatóide

Evidências clínicas e experimentais demonstram que o desenvolvimento das DAI é influenciado por fatores hormonais, ambientais e imunológicos, que atuam em conjunto sobre indivíduos geneticamente suscetíveis. O efeito isolado de tais fatores não induz DAI (KLARESKOG, WEDREN, ALFREDSSON, 2009). Estudos ao longo do tempo têm mostrado que a superposição desses fatores é determinante para o desenvolvimento da AR (Figura 3).

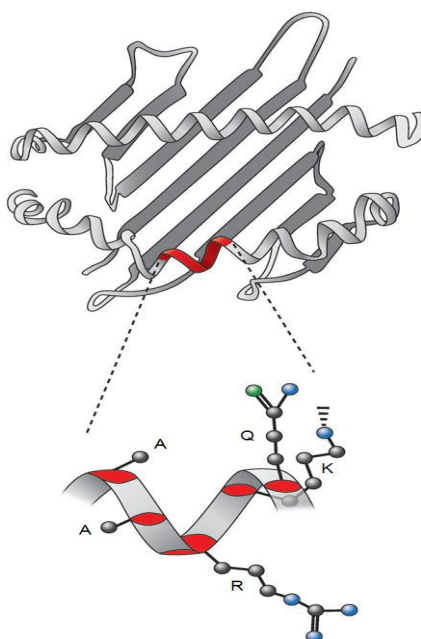
Atribui-se 60% à contribuição genética para o risco de desenvolvimento da AR, sendo forte sua associação com a positividade do anticorpo anti-CCP (TURESSON, MATTESON, 2006). A ligação entre AR e os genes *HLA* tem sido confirmada por numerosos estudos em diversas populações, particularmente para os alelos *HLA-DRB1* (TURESSON, MATTESON, 2006; DELGADO-VEGA, ANAYA, 2007). Os alelos *HLA-DRB1* estão fortemente relacionados à suscetibilidade a AR em pacientes de ascendência européia e afro-americanos, bem como ao desenvolvimento de formas mais graves da doença (HUGHES et al., 2008). Porém, essa associação não foi observada na população japonesa, o que ressalta a importância de se levar em consideração as características étnicas das populações (SHIOZAWA, HAYASHI, TSUKAMOTO, 1998).

Os alelos *HLA-DRB1* compartilham seqüências de aminoácidos glutamina-leucina-arginina-alanina-alanina (QRRAA, RRRAA, ou QKRRAA), chamadas epítipo comum ou do inglês, *shared epitope* (SE), conservadas nas posições 70-75 da terceira região de hipervariabilidade da cadeia β da molécula *HLA-DRB1* (Figura 4). Numerosos estudos têm sido conduzidos a fim de esclarecer esta relação, porém até o momento não foi possível detectar uma explicação consensual.

FIGURA 3 - FATORES ENVOLVIDOS NO DESENCADEAMENTO DA AR



FONTE: O Autor (2009).

FIGURA 4 - ALELOS *HLA-DRB1* CODIFICAM SEQÜÊNCIA CONSERVADA (QKRAA) NA PAREDE EM α -HÉLICE DOS SÍTIOS DE LIGAÇÃO PEPTÍDICA

FONTE: Adaptado de IMBODEN (2009)

Apesar dos alelos SE constituírem o principal risco genético associado à AR, outros genes também parecem estar relacionados à doença. Recentemente, foram identificados novos genes como risco moderado para o desenvolvimento da AR, incluindo *PTPN22*, *PADI4*, *TRAF1-C5*, *STAT4* e 6q23/*TNFAIP3*. Todavia o seu papel parece ser secundário, uma vez que parecem exercer influência moderada (ALARCÓN-RIQUELME, 2007; RANTAPÄÄ-DAHLQVIST, 2009; GANDJBAKHCH et al., 2009). Esses aspectos reforçam a importância das investigações em pacientes com AR das diferentes populações mundiais, em especial daquelas com grande mistura de etnias, como a do sul do Brasil.

Em contrapartida, outra sequência de aminoácidos compartilhada por determinados alelos *HLA-DRB1* (DERAA), demonstraram conferir proteção contra o desenvolvimento da AR. Tais alelos são encontrados em aproximadamente 30% dos indivíduos caucasóides saudáveis e em apenas 16% dos pacientes com AR (VAN DER HELM VAN MIL et al., 2005).

As DAI em geral apresentam maior prevalência no sexo feminino, o que pode ser reflexo da maior resposta imune humoral a antígenos, característica das mulheres. A AR afeta 2 a 4 vezes mais mulheres do que homens, e diversos estudos têm relacionado o sexo feminino ao desenvolvimento de formas mais graves da doença. Tais constatações, porém, ainda são contraditórias (SOKKA et al., 2009; VAN VOLLENHOVEN, 2009). Alguns estudos têm demonstrado certa influência do estradiol sobre a diminuição da apoptose e função de células imunológicas, bem como na expressão de citocinas pró-inflamatórias, suprimindo a resposta imunológica (KRAMER, KRAMER, GUAN, 2004). Já o efeito do estrógeno exógeno sobre a remissão e o fenótipo da AR tem apresentado resultados contraditórios (D'ELIA et al., 2003; WALITT et al., 2008).

Condições relacionadas ao aumento de estrógeno e progesterona tais como a gravidez, período pós-ovulatório, mulheres multíparas e uso de contraceptivo oral, induzem diminuição no nível de atividade da doença. Já, durante o período pós-parto, quando os níveis hormonais diminuem, as pacientes apresentam um aumento significativo dos sintomas (CONSTENBADER, MANSON, 2008).

Diversos estudos sugerem ainda a influência de infecções por microorganismos na fisiopatologia da AR, através de mecanismos de mimetismo molecular. Entre os microorganismos mais associados ao desenvolvimento da AR

estão o *Proteus mirabilis* e o vírus Epstein-Barr e (TOUSSIROT, ROUDIER, 2008). Anticorpos específicos para antígenos nucleares do vírus Epstein-Barr são freqüentemente detectados no soro de pacientes com AR e apresentam reação cruzada com proteínas da membrana sinovial, bem como já foram evidenciados DNA e RNA viral na sinóvia de pacientes com AR.

Aliado a esse aspecto, homologia entre a seqüência SE dos alelos *HLA-DRB1* e a proteína gp110 do vírus Epstein-Barr já foram identificadas, corroborando a hipótese de resposta imunológica cruzada entre essas estruturas (ROUDIER et al., 1989).

Por sua vez, já se encontra bem estabelecida a relação entre o consumo de tabaco e maior suscetibilidade ao desenvolvimento da AR em pacientes *HLA-SE* positivos (MICHOU et al, 2008b, LUNDSTRÖM et al., 2009). O risco relativo para ex-fumantes comparados a não-fumantes é de 3,8 e 2,6 respectivamente, e a interação com fatores genéticos aumenta em 21 vezes o risco para desenvolvimento da AR. Existem hipóteses que tentam explicar a associação entre o *HLA-SE* e o uso do tabaco. KLARESKOG et al. (2006) demonstraram que, em pacientes portadores do *HLA-SE*, o cigarro acelera reações de citrulinização em proteínas pulmonares o que dispara reações imunológicas específicas, com a produção de auto-anticorpos. Em contrapartida, substâncias que compõem a fumaça do cigarro podem agir como adjuvantes, iniciando a resposta imunológica inata (LORENTZEN et al., 1998; WILDER et al., 1999). O cigarro também afeta o curso da AR, elevando o risco de envolvimento de múltiplas articulações e aparecimento de nódulos reumatóides (YOUNG, KODURI, 2007)

Diversos outros fatores ambientais, como o estresse, deficiência de vitamina D e determinadas vacinas também já foram descritos como possíveis fatores etiológicos envolvidos no desenvolvimento da AR (JORGENSEN et al., 2008; LIAO, ALFREDSSON, KARLSON, 2009).

3.1.2 Fisiopatogenia da Artrite Reumatóide

A AR é resultante da ação de células T e B autoreativas que, agindo conjuntamente, levam à sinovite, infiltração celular e a um processo desorganizado de destruição e remodelação óssea (FELDMANN, BRENNAN, 1996). Pequenas

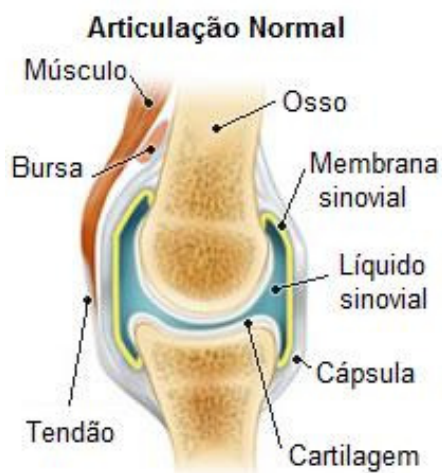
articulações de mãos e pés estão entre as mais afetadas, embora envolvimento de articulações de maior porte também componham o espectro clínico dessa doença. A sinóvia ao redor da articulação entre C1 e C2 também é frequentemente afetada, o que resulta na instabilidade da coluna, podendo haver compressão medular. Por ser uma doença extremamente heterogênea e complexa, tem-se sugerido uma subclassificação da AR baseada na presença ou ausência de anticorpos anti-CCP, o que poderia indicar diferentes etiologias para os diferentes subtipos de doença (VAN DER HELM-VAN MIL, HUIZINGA, 2008; PRATT, ISAACS, MATTEY, 2009).

Estudos envolvendo biópsias sinoviais têm ajudado a elucidar grande parte dos mecanismos patogênicos da AR a nível molecular, pois é na membrana sinovial que surgem os primeiros focos inflamatórios da doença. Esta membrana delimita a cavidade articular, a bursa e a bainha dos tendões. A membrana sinovial normal é composta por um tecido conectivo caracterizado pela presença da camada íntima, com 1 a 2 camadas celulares de espessura, e ausência de membrana basal. Logo abaixo da camada íntima, encontram-se os vasos sangüíneos, linfáticos e nervos (Figura 5).

Dois tipos celulares são encontrados na camada íntima: os sinoviócitos semelhantes a macrófagos, cuja função principal é a fagocitose, e os sinoviócitos semelhantes a fibroblastos, responsáveis pela síntese de proteínas da matriz extra celular, tais como colágeno, fibronectina, ácido hialurônico além de outras moléculas que facilitam a lubrificação e funcionamento da superfície cartilaginosa.

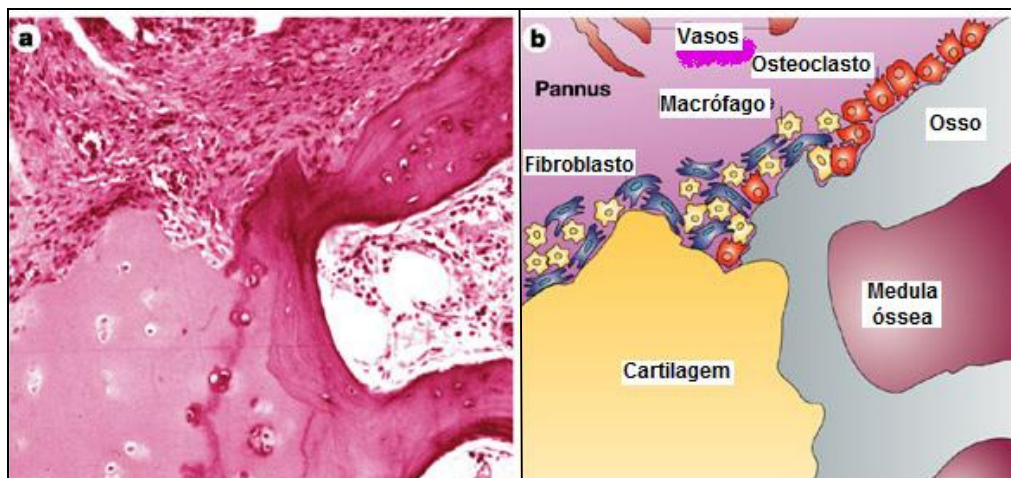
As alterações do tecido sinovial observadas na AR são decorrentes de um processo complexo e dinâmico que envolve a sinalização molecular através de quimiocinas, moléculas de adesão, citocinas e fatores de crescimento, em conjunto com eventos celulares tais como apoptose, proliferação e migração celular. A proliferação de sinoviócitos proporciona aumento na espessura da camada íntima que é a principal fonte de citocinas pró-inflamatórias e proteases e, em conjunto com osteoclastos e condrócitos, promove a destruição articular. Projeções de tecido proliferativo penetram na cavidade articular, invadindo a cartilagem e o tecido ósseo, formando o *pannus*, característico da AR (FIRESTEIN, 2003) (Figura 6).

FIGURA 5 - ARTICULAÇÃO NORMAL



FONTE: Adaptado de <http://www.medicinenet.com>

FIGURA 6 - ARTICULAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE



FONTE: Adaptado de POPE (2002)

NOTA: a) corte histológico do *pannus*; b) representação esquemática da formação do *pannus*

Diversos tipos celulares se acumulam na sinóvia reumatóide. Linfócitos T e B, plasmócitos, células dendríticas e células natural killer (NK) se distribuem difusamente e ou se organizam em agregados linfóides. O tipo celular predominante são as células T auxiliares, cujos papéis principais são produção de citocinas pró-inflamatórias, contato célula-célula, respostas antígeno-específicas, ativação de osteoclastos e reabsorção óssea (COPE, SCHULZE-KOOPS, ARINGER, 2007). Estudos recentes sugerem diferenças nos repertórios de células T de pacientes anti-

CCP positivos e negativos, porém a origem e função dessa diferença permanece desconhecida (CANTAERT et al., 2009).

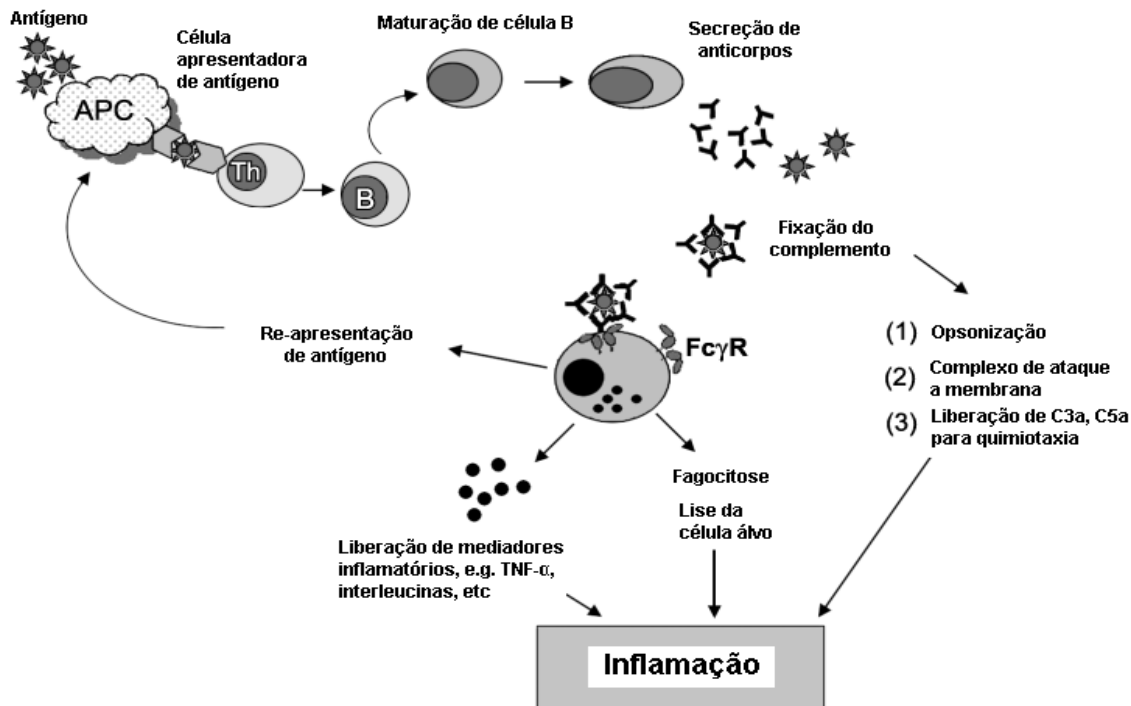
Por sua vez, o líquido sinovial sofre um aumento acentuado em seu volume devido ao aumento da permeabilidade da microvasculatura sinovial. Polimorfonucleares se acumulam no fluído sinovial e, após serem ativados por imunocomplexos e restos celulares, degranulam formando espécies reativas de oxigênio e liberando citocinas (HITCHON, EL-GABALAWY, 2004).

Diversas hipóteses tentam explicar a seqüência de eventos verificados na etiologia da AR. A mais aceita sugere que modificações pós-traducionais induzidas por agentes ambientais transformam moléculas próprias em imunogênicas. Fatores ambientais como o cigarro aceleram a reação de citrulinização através da regulação positiva da enzima peptidilarginina deiminase (PAD) em macrófagos ativados ou em apoptose (MAKRYGIANNAKIS et al., 2008). Em indivíduos portadores dos genes *HLA-SE*, a citrulinização aumenta a ligação dos peptídeos modificados ao HLA-DR que possui a seqüência SE, aumentando dessa forma a imunogenicidade da proteína. Em consequência à exposição prolongada ao cigarro, ou outros estímulos ambientais, a resposta do sistema imunológico adaptativo aos peptídeos citrulinados pode preceder em anos o aparecimento dos sintomas clínicos da AR (KLARESKOG et al., 2006).

Tanto o fibrinogênio como a vimentina citrulinados já foram identificados nas articulações de pacientes com AR e são alvos dos anticorpos anti-CCP. É provável que outras proteínas além dessas sofram reações de citrulinização (VOSSENAAR, 2004a; VOSSENAAR, VAN VENROOIJ, 2004).

Após a estimulação antigênica, plasmócitos se diferenciam, não somente através da interação com células T, como também pela ligação com complexos imunes e *Toll-like receptors*, os quais também parecem contribuir para a liberação de citocinas pró-inflamatórias e progressão da doença (LI et al., 2009). O papel das células B na patogênese da AR não se restringe à produção de auto-anticorpos. Na membrana sinovial inflamada, elas se localizam principalmente no centro germinativo do tecido linfóide secundário e são fonte das citocinas pró-inflamatórias fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina (IL) 10, IL-6, IL-1 e IL-17 (Figura 7).

FIGURA 7 - MECANISMO DA INFLAMAÇÃO NA ARTRITE REUMATÓIDE



FONTE: Adaptado de SARDJONO, MOTTRAM, HOGARTH, (2003)

NOTA: APC = célula apresentadora de antígeno

Na AR, o TNF- α é liberado principalmente pelos macrófagos sinoviais após estimulação, provavelmente via *Toll-like receptors*, complexos imunes e outras citocinas, como IL-15 (CLAVEL et al., 2008). Seus principais efeitos são liberação de outras citocinas, incluindo IL-1, metaloproteases pelos fibroblastos, diminuição da síntese de proteoglicanos pelos condrócitos, além de promover a diferenciação de monócitos em osteoclastos (Figura 8).

A produção e liberação de IL-10 promovem ativação de células dendríticas que, por sua vez, irão estimular diferenciação de plasmócitos. Esse mecanismo de retro-alimentação garante a síntese subsequente de FR e anticorpo anti-CCP, bem como a produção local de imunocomplexos. Já a IL-6 tem sua liberação aumentada pela interação entre sinoviócitos semelhantes a fibroblastos e células NK (CHAN et al., 2008), e induz aumento das proteínas de fase aguda e ativação de osteoclastos com conseqüente erosão óssea (KISHIMOTO, 2005). A IL-1 contribui de várias maneiras para a inflamação característica da AR, entre elas, proporciona o aumento na síntese de IL-6, quimiocinas, prostaglandinas e collagenases (Figura 9; SCHETT, 2008).

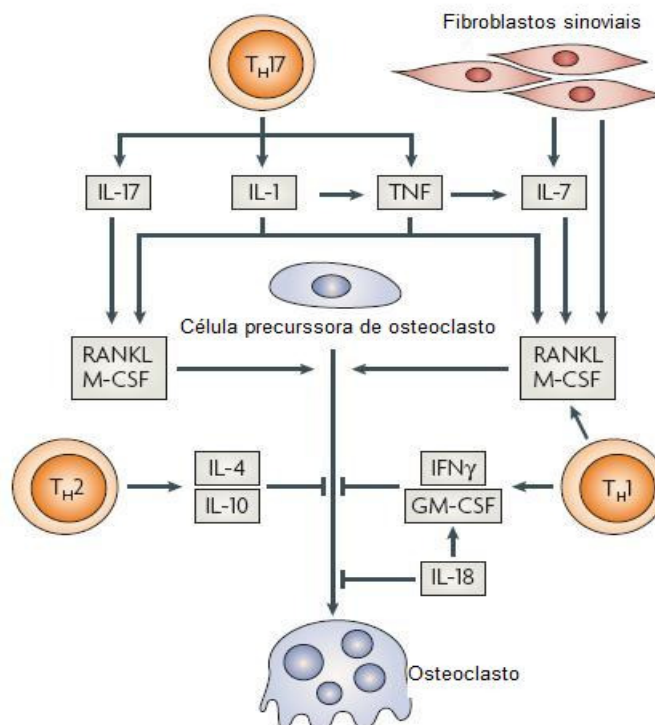
FIGURA 8 - FUNÇÕES DO TNF- α NA ARTRITE REUMATÓIDE

FONTE: BRENNAN, McINNES (2008)

Por sua vez, a citocina IL-17 produzida por células Th17, desempenha papel fundamental na AR, atuando de forma sinérgica com o TNF- α e IL-1, favorecendo a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos fibroblastos e macrófagos, além de aumentar a ativação dos osteoclastos (AFZALI et al., 2007). A interação entre células Th17 e T regulatórias parece ser fundamental para o desenvolvimento da autoimunidade em modelos animais (Figura 9) (NISTALA, WEDDERBURN, 2009).

Estudos têm demonstrado ainda níveis altos de IL-7 no líquido sinovial de pacientes com AR, que contribuem na manutenção do processo inflamatório e reabsorção óssea. Porém, na circulação seus níveis são baixos e essa diferença pode explicar algumas manifestações sistêmicas da doença (Figura 9) (CHURCHMAN, PONCHEL, 2008).

FIGURA 9 - REGULAÇÃO DA DIFERENCIAÇÃO DOS OSTEÓCLASTOS NA AR



LEGENDA: A maturação do osteoclasto é regida pela ação do $\text{TNF}\alpha$, IL-1 e IL-17, produzidas por células Th17, e IL-7, produzida por fibroblastos sinoviais. Em contraste, IL-4 e IL-10, produzidas por células Th2, e fator de estimulação de colônia de granulócito/macrófago e interferon- γ , produzidos por células Th1, inibem a diferenciação dos osteoclastos.

FONTE: Adaptado de McINNIS, SCHETT (2007)

Apesar da relação entre a positividade para o FR e o desenvolvimento da AR não estar totalmente esclarecida, ambos estão intimamente relacionados. A presença de agregados de imunoglobulina do tipo G (IgG) ou de complexos de IgG-FR pode ativar o sistema complemento e resultar em diversos fenômenos inflamatórios, incluindo liberação de histamina, produção de fatores quimiotáticos e lesão da membrana celular. A ativação do sistema complemento pelos imunocomplexos pode ainda iniciar inflamação vascular com depósitos de FR em arteríolas, originando vasculites cujo impacto na qualidade e expectativa de vida do paciente é significativo (TURESSON, MATTESON, 2009). O reconhecimento dos complexos imunes por fagócitos promove liberação de diversas citocinas pró-

inflamatórias, principalmente TNF- α , e a lise de células-alvo, o que exacerba ainda mais o processo inflamatório (CLAVEL et al, 2008).

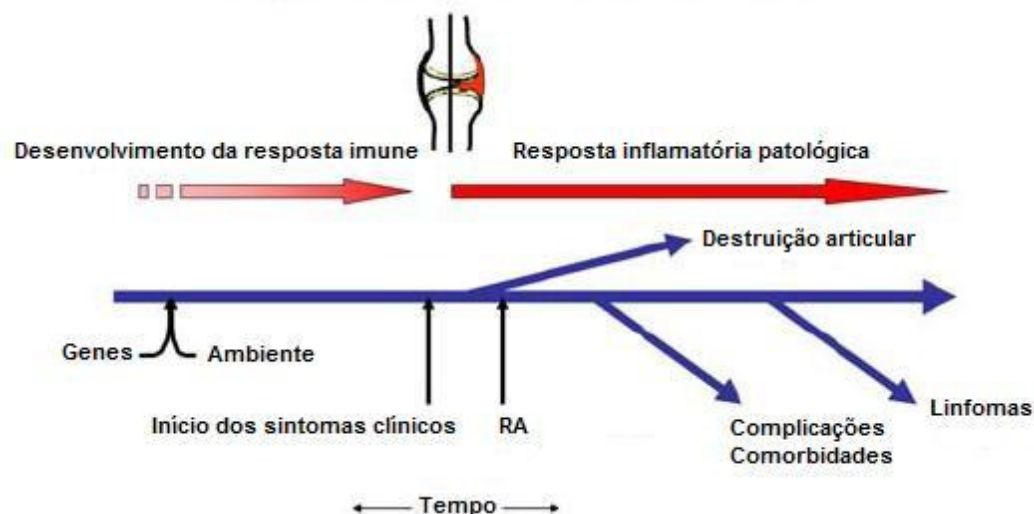
Tanto a presença do HLA-SE como o tabagismo já foram relacionados à presença do FR (PADYUKOV et al., 2004). A positividade para anticorpo anti-CCP também está associada à positividade para o FR, porém não são completamente coincidentes.

3.1.3 Manifestações clínicas

A AR constitui uma doença inflamatória crônica progressiva, sendo caracterizada por sinovite com envolvimento preferencial de articulações de mãos e punhos, de caráter simétrico e aditivo. As manifestações clínicas da AR podem ter início em qualquer idade, embora sejam observadas com maior frequência na quarta e quinta décadas de vida. A AR pode se manifestar de forma bastante variável, desde manifestações mais brandas, de menor duração, até uma poliartrite progressiva e destrutiva, associada com vasculite sistêmica e outras manifestações extra-articulares (Figura 10) (TEHLIRIAN, BATHON, 2008).

Complicações decorrentes de infecções localizadas ou extra-articulares têm sido relatadas e associadas a altos índices de mortalidade, resultantes de condições como septicemias, pneumonias, abscessos pulmonares ou pielonefrites. A longo prazo, o prognóstico da AR é ruim, pois 80% dos afetados estão incapacitados após 20 anos, e sua expectativa de vida é reduzida numa proporção de 3 a 18 anos (ALBANI, CARSON, 1997).

FIGURA 10 - INFLUÊNCIA GENÉTICA, AMBIENTAL E IMUNOLÓGICA NO INÍCIO E DESENVOLVIMENTO DA ARTRITE REUMATÓIDE



FONTE: Adaptado de KLARESKOG, WEDRÉN, ALFREDSSON (2009)

3.1.4 Avaliação da atividade da doença

A avaliação da atividade da doença deve ser feita preferencialmente até 2 meses antes de atingido o estado de remissão ou baixa atividade da doença e reavaliações com intervalos de aproximadamente 3 meses. Sugere-se a repetição de exames radiográficos de mãos, punhos e pés a cada ano (BERTOLO et al., 2007).

Existem diversos índices para a avaliação da atividade da doença, dentre eles o índice simplificado de atividade de doença (SDAI), o índice clínico de atividade de doença (CDAI), o índice de atividade de doença (DAS) e o índice de atividade de doença – 28 articulações (DAS 28), sendo este o mais amplamente utilizado.

O SDAI emprega cinco parâmetros e é o índice mais simplificado, sendo seu resultado obtido pela soma de seus componentes, de acordo com o Quadro 1. Destaca-se o fato de que o SDAI emprega a determinação da proteína C reativa como parâmetro de avaliação de inflamação ao invés de empregar a velocidade de hemossedimentação, mais sujeita a alterações não relacionadas à inflamação (PINHEIRO, 2007).

QUADRO 1 - PARÂMETROS EMPREGADOS NO ÍNDICE SIMPLIFICADO DE ATIVIDADE DE DOENÇA

MEDIDA	PARÂMETRO
Número de articulações dolorosas	N = 28
Número de articulações edemaciadas	N = 28
Avaliação da atividade de doença pelo paciente	EVA: 0 a 10
Avaliação da atividade de doença pelo médico	EVA: 0 a 10
Proteína C reativa	0.1 a 10 mg/dl

FONTE: Adaptado de PINHEIRO et al. (2007)

NOTA: EVA = escala visual analógica

Por sua vez, o cálculo do índice CDAI é feito de forma semelhante ao SDAI, porém não utiliza parâmetros laboratoriais para o cálculo. Assim, pode ser calculado no momento da consulta médica (PINHEIRO, 2007).

O DAS é calculado a partir da seguinte fórmula:

$$0,53938 \times \sqrt{\text{IAR}} + 0,06465 \times \text{NAE} + 0,330 \times \ln \text{VHS} + 0,00722 \times \text{AGS}$$

sendo: IAR (índice articular de Ritchie) – 53 articulações avaliadas quanto à dor e ponderadas em: 0 - sem dor; 1- dor leve; 2 - dor moderada; 3 - dor intensa;

NAE (número de articulações edemaciadas);

VHS (velocidade de hemossedimentação);

AGS (avaliação global de saúde) – escala visual analógica de 0 a 100 (PINHEIRO, 2007).

O cálculo do DAS 28 utiliza apenas 28 articulações (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos, bilateralmente). Em substituição ao IAR, utiliza o número de articulações dolorosas dentre essas 28 (NAD), sem ponderar a intensidade da dor, de acordo com a seguinte fórmula (PINHEIRO, 2007):

$$0,56 \times \sqrt{\text{NAD}28} + 0,28 \times \sqrt{\text{NAE}} + 0,70 \times \ln \text{VHS} + 0,014 \times \text{AGS}$$

Os níveis de atividade de doença para os diversos índices de avaliação encontram-se resumidos no Quadro 2:

QUADRO 2 - RESUMO DOS ÍNDICES DE AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE DA DOENÇA COM SEUS DIFERENTES VALORES DE CORTE

Índice	Categoria de atividade de doença	Definição
SDAI	Remissão	< 5
	Baixa	≤ 20
	Moderada	≤ 40
	Alta	> 40
CDAI	Remissão	< 2.6
	Baixa	≤ 1.0
	Moderada	≤ 22
	Alta	> 22
DAS	Remissão	< 1.6
	Baixa	≤ 2.4
	Moderada	≤ 3.7
	Alta	> 3.7
DAS 28	Remissão	≤ 2.6
	Baixa	≤ 3.2
	Moderada	≤ 5.1
	Alta	> 5.1

FONTE: Adaptado de PINHEIRO et al. (2007)

3.1.5 Diagnóstico da Artrite Reumatóide

O diagnóstico da AR é realizado através da associação entre dados clínicos, laboratoriais e radiográficos. As articulações mais frequentemente afetadas são as articulações sinoviais periféricas, tais como articulações metatarsofalangianas, tornozelos e punhos. Entretanto, também pode haver comprometimento de joelhos, ombros, cotovelos e quadris. Articulações como a temporomandibular, as articulações sinoviais da coluna e ocasionalmente a laringe são ocasionalmente afetadas, o que pode dificultar o diagnóstico (MAJITHIA, GERACI, 2007).

Edema, dor e calor local são características das articulações afetadas, as quais podem ainda apresentar rubor local. Deformações articulares ocasionadas por inflamação persistente, tais como *boutonniere* ou em “pescoço de cisne”, são características da AR não tratada.

Além dos sintomas articulares, manifestações extra-articulares são observadas em aproximadamente 50% dos pacientes, sendo a síndrome de Sjögren a mais comum. Uma manifestação extra-articular típica da AR são os nódulos reumatóides, que resultam da vasculite de pequenos vasos e conseqüente necrose com proliferação de fibroblastos e histiócitos epiteliais (Figura 11). Envolvimento pulmonar com alterações pleurais, e distúrbios cardiovasculares também são comuns.

FIGURA 11 - NÓDULOS REUMATÓIDES EM COTOVELO



FONTE: O Autor (2009)

O diagnóstico da AR segue os critérios estabelecidos pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) (ARNETT et al., 1988) sendo que o paciente deve atender a pelo menos 4 destes por um período mínimo de 6 semanas para ter o diagnóstico da doença confirmado (Quadro 3). Dentre esses critérios, encontra-se a presença do FR no soro.

QUADRO 3 - CRITÉRIOS REVISADOS DE CLASSIFICAÇÃO DA ARTRITE REUMATÓIDE

CRITÉRIO	DEFINIÇÃO
Rigidez matinal	Rigidez nas articulações ou ao redor das mesmas com duração mínima de 1 hora
Artrite em três ou mais articulações	Ao menos três articulações simultaneamente afetadas por edema de partes moles ou derrame de fluido (não apenas aumento de volume ósseo).
Artrite nas articulações da mão	Ao menos uma das seguintes áreas afetadas: punho, interfalangeanas proximais e metacarpofalangeanas
Artrite simétrica	Envolvimento simultâneo das mesmas articulações em ambos os lados do corpo
Nódulos reumatóides	Nódulos subcutâneos, sobre proeminências ósseas, superfícies extensoras ou regiões justa-articulares.
Fator reumatóide	Fator reumatóide sérico positivo
Alterações radiográficas	Alterações radiográficas típicas da AR na região posteroanterior das mãos ou punhos, as quais devem incluir erosões ou descalcificações localizadas nas articulações ou em suas proximidades

FONTE: Adaptado de ARNETT et al. (1988)

Objetivando a avaliação da eficácia do tratamento, o ACR desenvolveu critérios para avaliar a resposta ao tratamento. Esses se baseiam em parâmetros tais como número de articulações edemaciadas, avaliação da dor pelo paciente, avaliação da gravidade da doença pelo médico e paciente, avaliação da incapacidade funcional pelo paciente entre outros. Assim, a resposta ACR20 significa melhora de 20% em relação ao número de articulações dolorosas e edemaciadas associado a 20% de melhora em ao menos cinco outros parâmetros. Este corresponde ao mínimo de melhora necessário para distinção entre o medicamento efetivo e o placebo. Por sua vez, o ACR50 e ACR70 correspondem a 50% e 70% de melhora nesses mesmos parâmetros, respectivamente, e refletem níveis de melhora com relevância clínica mais elevada (OLIVER, CLAIR, 2008).

Por sua vez, a avaliação do grau de comprometimento do paciente em relação as suas atividades cotidianas é feita utilizando classes funcionais. Assim, os pacientes são classificados da seguinte forma, segundo o ACR:

- Classe I: o paciente é completamente capaz de executar atividades profissionais, de cuidado pessoal e de lazer;
- Classe II: o paciente é capaz de executar atividades profissionais e de cuidado pessoal, porém tem limitações na execução de atividades de lazer;
- Classe III: o paciente é capaz de executar atividades de cuidado pessoal, porém possui limitações em relação às atividades profissionais e de lazer;
- Classe IV: o paciente apresenta limitações para a execução de atividades profissionais, de cuidado pessoal e de lazer.

Técnicas de imagem sofisticadas têm contribuído de forma significativa para o diagnóstico precoce da AR. Atualmente, a ressonância magnética é a técnica que traz mais benefícios ao diagnóstico da doença, pois evidencia alterações tanto de tecidos moles quanto de cartilagem e ossos mais precocemente que a tomografia computadorizada. Já as técnicas radiológicas convencionais, apesar de amplamente disponíveis, não são capazes de evidenciar todas as possíveis facetas da AR (Figura 12 e 13).

FIGURA 12 - RADIOGRAFIA DE MÃO MOSTRANDO DEFORMAÇÕES GRAVES DA AR EM ESTÁGIO AVANÇADO



FONTE: Adaptado de SOMMER et al. (2005)

FIGURA 13 - RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EVIDENCIANDO SINOVITE DA 2ª E 3ª ARTICULAÇÕES METACARPOFALANGEAIS E CISTO (SETA)



FONTE: Adaptado de SOMMER et al. (2005)

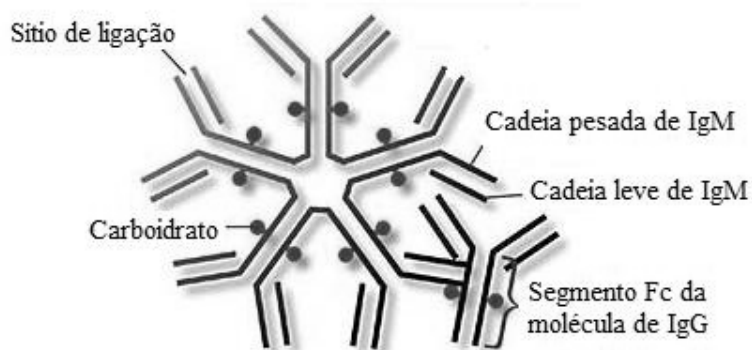
Alterações hematológicas características de doenças crônicas (anemia normocítica normocrômica) podem estar presentes no hemograma do paciente com AR. Trombocitose e leucocitose podem ser observadas em pacientes com doença inflamatória ativa, bem como o ferro sérico pode estar diminuído.

A determinação do FR é amplamente utilizada no diagnóstico da AR, porém os resultados devem ser criteriosamente ponderados diante da especificidade limitada do exame. Em contrapartida, os anticorpos anti-CCP possuem elevada especificidade e sensibilidade semelhante ao FR, o que tornam a determinação do anti-CCP uma ferramenta de grande utilidade para o diagnóstico da AR.

3.1.6 Fator Reumatóide

O FR representa um grupo de auto-anticorpos caracterizados pela habilidade de reagir com determinados epítomos da porção Fc da IgG e, além de ser considerado um dos marcadores imunológicos da AR, atua ativamente na patogênese da doença, sendo sua presença sugestiva de prognóstico desfavorável (GOODSON, FARRAGHER, SYMMONS, 2008; NELL-DUXNEUNER et al., 2009). *In vivo*, o FR pode ser das classes IgA, IgG ou IgM, porém a classe IgM é a que se detecta sorologicamente com maior frequência (BUREK, ROSE, 1995) (Figura 14).

FIGURA 14 - FATOR REUMATÓIDE REAGINDO COM PORÇÃO Fc DE IgG



FONTE: Adaptado de www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Students/spring2006

Teoricamente, um estímulo antigênico como um vírus que inicia um processo patológico, por exemplo, pode levar ao aparecimento de uma IgG anormal na sinóvia, resultando na produção de FR e no desenvolvimento posterior da doença reumática. Assim, o FR provavelmente não inicia o processo inflamatório na doença reumática, mas atua perpetuando e amplificando esse processo (SACK, FYE, 2000).

Evidências sugerem que indivíduos saudáveis sintetizam FR durante uma resposta imunológica secundária, o qual é útil na eliminação de complexos imunes. Esses anticorpos são denominados anticorpos anti-idiotípicos e atuam na regulação da resposta imunológica. Em indivíduos saudáveis essa resposta é transitória. No entanto, na AR, pode ocorrer uma ativação policlonal de células B levando a uma desregulação desse processo e desenvolvimento da doença (NOWAK, NEWKIRK, 2005).

O FR pode ocorrer na população sadia com prevalência que varia entre 1% e 4%, estando acima de 20% em indivíduos com mais de 65 anos (HELLMANN, STONE, 2004). Nessas situações, o anticorpo é produzido por células B do tipo 1 e apresenta baixa reatividade e afinidade (BUGATTI et al., 2007).

O FR é utilizado frequentemente para diferenciar AR de outras artrites crônicas, sendo que na AR geralmente é detectado em altos títulos. Sua sensibilidade é de aproximadamente 80% e especificidade de 70%. Outras doenças como lúpus eritematoso sistêmico (LES), síndrome de Sjögren, hepatite crônica ativa, sífilis, sarcoidose, endocardite infecciosa, tuberculose, hanseníase e algumas

infecções parasitárias podem mostrar positividade para esse anticorpo, embora sempre em títulos baixos (HELLMANN, STONE, 2004; HABASH-BSEISO et al., 2005).

3.1.7 Anticorpo anti-CCP

A busca por marcadores prognósticos da AR tem sido objeto de inúmeros estudos. Auto-anticorpos com diferentes especificidades já foram identificados no soro de pacientes com AR, dentre eles o FR e o anti-CCP (VAN BOEKEL et al., 2002). Apesar do FR ser atualmente o único auto-anticorpo incluído nos critérios de classificação do ACR, o anti-CCP, pela elevada sensibilidade e especificidade que possui, vem sendo cada vez mais utilizado para a avaliação de pacientes com suspeita de AR.

A descoberta dos anticorpos anti-CCP teve início em 1964, com a identificação do então chamado fator perinuclear, por Nienhuis e Mandema. Através de reações de imunofluorescência indireta nas quais o soro de pacientes com AR reagia com células da mucosa oral humana, os autores detectaram positividade em certas regiões celulares próximas ao núcleo, porém sem identificar o componente protéico envolvido (NIENHUIS, MANDEMA, 1964).

Posteriormente, SEBBAG et al. (1995) evidenciaram que o fator perinuclear nada mais era do que uma proteína citrulinada associada a filamentos de queratina pertencentes ao citoesqueleto. Os autores denominaram o auto-anticorpo envolvido nesse reconhecimento de antifilagrina, nomenclatura essa que mais tarde foi substituída pelo atual anti-CCP.

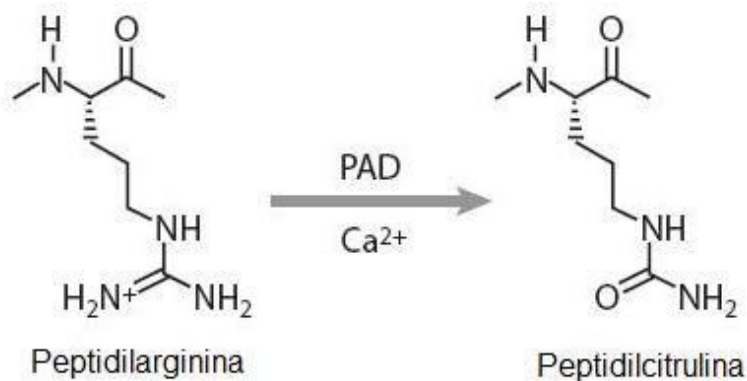
Os anticorpos anti-CCP são produzidos localmente na membrana sinovial inflamada e no líquido sinovial de pacientes com AR (REPARON-SCHUIJT et al., 2001; KINLOCH et al., 2008) e são capazes de reagir com diversos peptídeos citrulinados (ALESSANDRI et al., 2008). Apesar de não se conhecer o peptídeo citrulinado existente nas articulações, um número de peptídeos altamente reativos já foi identificado, entre eles a filagrina, vimentina, fibrina e alfaenolase (ALESSANDRI et al., 2008). Em especial, peptídeos citrulinados de vimentina se mostraram

altamente específicos para a AR. Tais peptídios são atualmente utilizados nos kits de CCP de segunda geração.

A citrulinização consiste em uma modificação pós-traducional de uma determinada proteína, na qual um resíduo de arginina é convertido em citrulina. A arginina é um aminoácido de caráter fortemente básico devido à presença de um grupamento guanidina. A citrulina resultante perde tal característica básica devido a sua natureza neutra. O processo é catalisado pela enzima PAD (Figura 15).

Além da reação de citrulinização, a citrulina também pode ser gerada como produto secundário da ação entre a oxido nítrico sintetase (NOS) e a arginina (ALIVERNINI et al., 2008).

FIGURA 15 - REAÇÃO DE CITRULINIZAÇÃO



FONTE: Adaptado de INBODEM (2009)

Associação genética entre genes HLA-DRB1, os quais conferem maior suscetibilidade à AR, e a produção elevada de NOS foi recentemente sugerida (LING et al., 2006).

O aminoácido citrulina não é usualmente encontrado nas diversas estruturas protéicas humanas e, portanto, pode induzir resposta imunológica.

Apesar de ser detectado ocasionalmente em paciente sem AR (VOSSENAAR, 2004b; VAN DER CRUYSEN et al, 2005; FABIEN et al., 2008), os testes imunoenzimáticos recentemente desenvolvidos para quantificação de

anticorpos anti-CCP têm demonstrado sensibilidade de 67% e especificidade de 95% para AR (NISHIMURA et al., 2007).

Inúmeros estudos têm demonstrado que o aparecimento de auto-anticorpos no soro de pacientes com AR pode preceder em anos os sintomas clínicos da doença (ARBUCKLE et al., 2003; RANTAPÄÄ-DAHLQVIST et al., 2003; NIELEN et al., 2004; MAJKA et al., 2008). Segundo CHIBNIK et al. (2009), a transição da forma pré-clínica para AR propriamente dita se dá pela elevação gradual dos títulos de anti-CCP. Tal elevação pode implicar em uma mudança quantitativa e/ ou qualitativa no perfil de auto-anticorpos presentes na circulação. A mudança quantitativa corresponde ao aumento gradual dos títulos de anticorpos anti-CCP circulantes até que, em um dado momento, a doença passa a se manifestar. Já a mudança qualitativa corresponde a uma alteração de especificidade e isotipo dos auto-anticorpos (MÉNARD, 2009). Alguns autores sugerem que a formação de anticorpos anti-Sa seja a principal alteração qualitativa envolvida no surgimento da AR (IOAN-FACSINAY et al., 2008; MÉNARD, 2009).

Uma vez que os auto-anticorpos podem ser detectados em fases precoces da doença, sua utilidade diagnóstica e prognóstica é notável, sendo considerados marcadores de pior prognóstico para a afecção (NISHIMURA, et al., 2007). O anticorpo anti-CCP pode também ser detectado nos pacientes FR negativos, devido a sua elevada sensibilidade (VOSSENAAR, VAN VENROOIJ, 2004).

Alguns estudos demonstram a associação entre a queda dos títulos do anticorpo anti-CCP no soro de pacientes em tratamento com melhora clínica significativa (ALESSANDRI et al., 2004; VIS et al., 2008). Tais estudos ressaltam o papel do anti-CCP na patogênese da AR, bem como sugerem sua determinação como ferramenta preditora de melhora clínica durante o tratamento.

A AR apresenta padrões de evolução distintos com diversos graus de incapacitação funcional e alterações extra-articulares. As diferenças individuais são marcantes e geram importante impacto social e econômico.

Do ponto de vista prognóstico, alguns fatores, quando presentes, se associam a pior evolução da AR, tais como: presença de manifestações extra-articulares, FR em altos títulos, positividade para anti-CCP e longo tempo de doença (LEE, BECK, HALL, 2008; ROJAS-VILLARRAGA et al., 2009).

Dessa forma, marcadores prognósticos, tais como o anti-CCP, são de grande importância para a identificação precoce de pacientes com formas mais graves da doença, o que possibilita a implantação racional do tratamento mais agressivo. Também são de grande utilidade ao poupar pacientes com formas mais brandas de possíveis efeitos tóxicos decorrentes de um tratamento mais agressivo. Medidas dessa natureza contribuem de forma significativa para a redução dos custos relacionados à doença, tanto para o paciente como para a sociedade.

Tais aspectos ressaltam ainda o valor da determinação do anti-CCP em familiares de pacientes com AR, conforme será abordado no item 3.2.

3.1.8 Tratamento da Artrite Reumatóide

Até recentemente, acreditava-se que a AR fosse uma doença de caráter benigno e bom prognóstico. As terapias eram de baixo custo e visavam apenas o controle dos sintomas, aguardando-se a regressão da doença. Entretanto, nas últimas décadas, a AR foi caracterizada como uma doença progressiva, freqüentemente agressiva e associada ao aumento da morbidade e mortalidade dos pacientes. Diante desses fatos, a abordagem terapêutica da AR mudou radicalmente (BUCKLEY, 1997; EMERY, 2006).

Atualmente o tratamento da AR consiste na adoção de diversas medidas que incluem a educação do paciente, terapias psico/ ocupacionais e medicamentosa (CAPPUZZO, 2008; CONSTANTINESCU et al., 2009). Assim como em outras DAI, o tratamento da AR inclui drogas imunossupressoras não específicas e anti-inflamatórios, cuja escolha é sempre baseada no balanço entre eficácia e segurança (LEE, WEINBLATT, 2001). Existem três grupos farmacológicos diferenciados utilizados para o tratamento medicamentoso da AR: (a) drogas antiinflamatórias não-esteroidais e glicocorticóides em baixa dosagem ou intra-articular, (b) DMARD e (c) drogas denominadas “agentes imunobiológicos”.

Já se encontram muito bem estabelecidos os benefícios decorrentes da implantação precoce do tratamento para a AR, o qual deve ser conduzido de forma agressiva visando remissão do processo inflamatório. Porém, ainda persistem diversas dúvidas e controvérsias sobre terapia de escolha e o uso de agentes biológicos (EMERY, 2006).

Drogas antiinflamatórias não-esteroidais são utilizadas no controle da dor e edema articulares, porém não alteram o curso da doença, motivo pelo qual não devem ser utilizadas de forma isolada. Já os corticoesteróides aliviam os sintomas e podem reduzir o dano articular, porém devem ser administrados em baixas dosagens e por curtos períodos de tempo devido aos efeitos colaterais e toxicidade elevadas (OLIVER, CLAIR, 2008).

As DMARD são fundamentais para o tratamento da AR por apresentarem vantagens notáveis, como redução do avanço da doença e melhora geral do prognóstico a longo prazo. O principal representante dessa classe de medicamentos é o metotrexato que atua inibindo o processo inflamatório. Também são muito utilizados hidroxicloroquina, sulfasalazina e leflunomida.

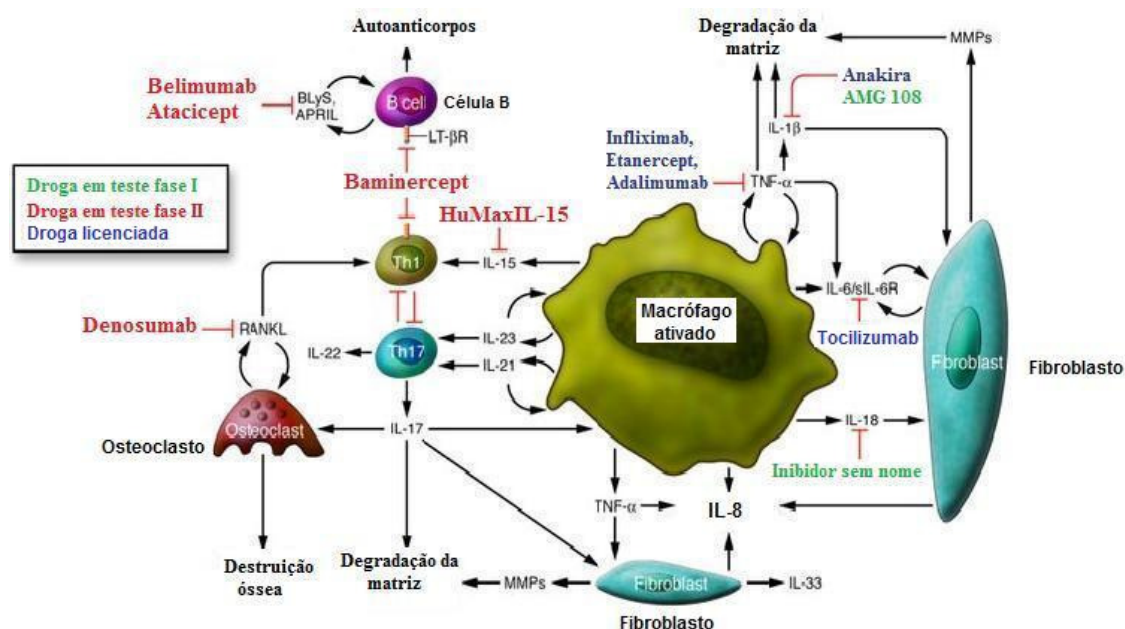
Os agentes ou medicamentos biológicos são a última geração de drogas antireumáticas, que incluem citocinas, moléculas sinalizadoras e células envolvidas na inflamação e lesão articular. São representantes dessa classe de medicamentos os antagonistas de TNF- α (adalimumab, etanercept e infliximab), antagonistas de IL-1 (anakinra), anticorpos anti-células B (rituximab) e reguladores da co-estimulação de células T (abatacept). Uma série de novos medicamentos biológicos se encontram em fase de teste, dentre eles, os bloqueadores de IL-15 (HuMaxIL-15) (Figura 16; SAITO, TANAKA, 2009; SENOLT et al, 2009). No entanto, estudos demonstram que medicamentos biológicos estão relacionados a risco aumentado de infecções e reativação de tuberculose, além de outros efeitos colaterais tais como problemas hepáticos, infecção do trato respiratório superior, dor abdominal, mialgias, náusea e fadiga. (TUBACH et al., 2009). Ainda, algumas drogas como os antagonistas de TNF- α estão relacionadas a risco aumentado de malignidades, devendo ser o paciente monitorado periodicamente (ASKLING, DIXON, 2008).

No Brasil, os medicamentos biológicos disponíveis são: infliximab, adalimumab, etanercept, rituximab, tocilizumab e abatacept.

Atualmente, meta-análises têm fornecido evidências que subsidiam de modo mais racional a escolha das melhores alternativas terapêuticas para a AR nas diferentes populações (ZINTZARAS et al., 2008). Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas estabelecidos pelo Ministério da Saúde, além de estabelecer os critérios diagnósticos para cada doença, também orientam a inclusão e exclusão de pacientes em tratamentos, bem como as doses corretas dos medicamentos.

Associação das diversas classes de medicamentos é a forma mais usual de tratamento e parece ser a maneira mais eficaz de controlar a doença, sendo a combinação de metotrexato e drogas antagonistas de TNF- α a combinação mais efetiva para prevenir a progressão radiográfica da AR (ZINTZARAS et al, 2008)

FIGURA 16 - MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES BIOLÓGICOS



FONTE: BRENNAN, McINNES (2008)

NOTA: MMPs = metaloproteinases

O ACR recomenda que pacientes com AR mantenham intervalos curtos entre cada consulta ao clínico. Dessa forma, é possível avaliar com maior precisão a atividade e gravidade da doença, bem como a necessidade de novas intervenções terapêuticas. Além disso, o ACR também recomenda a associação entre 2 ou 3 drogas DMARD, caso necessário. O uso de drogas DMARD deve ainda se basear no tempo de duração, grau de atividade da doença e presença de indicadores de mau prognóstico (SAAG et al., 2008).

KATSCHKE et al. (2007) sugeriram o bloqueio da via alternativa do complemento como novo alvo terapêutico para a diminuição da inflamação na AR.

O tratamento da AR é um processo contínuo que requer o acompanhamento periódico do paciente, com avaliação do índice de atividade da doença, investigação

de manifestações extra-articulares, monitoramento de efeitos colaterais e avaliação da capacidade funcional.

3.2 FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE

A ocorrência de diversos casos de AR em uma mesma família é relativamente comum e tanto mais evidente quanto maior a gravidade da doença. O risco estimado de familiares de pacientes com AR virem a desenvolver a doença é de 4% para irmãos, 4.7% para pais e filhos e 1.9% para familiares de segundo grau. Por sua vez, familiares de primeiro grau de pacientes com AR em sua forma erosiva podem ter mais de 15% de chance de desenvolver a doença, enquanto familiares de segundo grau tem esse risco pouco aumentado (HARNEY, WORDSWORTH, 2002). Recentes estudos em populações nativas Norte-Americanas encontraram positividade de 19% para o anti-CCP em familiares saudáveis de pacientes com AR o que contribui para a caracterização desses indivíduos como grupo de risco para o desenvolvimento da doença (IOAN-FACSINAY et al., 2008).

O interesse em familiares de primeiro e segundo grau de pacientes com AR e os fatores de risco envolvidos no desencadeamento da doença nos mesmos é objeto de estudos há anos. Esses sugerem que a agregação familiar, além dos aspectos genéticos, possa também estar relacionada ao sexo e idade de início da doença no familiar afetado (KWOH et al., 1996; KOUMANTAKI et al., 1997; GRANT et al., 2001).

ROJAS-VILLARRAGA et al. (2009) demonstraram que a história familiar é o principal fator relacionado ao tempo necessário para o surgimento de erosão articular significativa. Os autores sugerem que esta variável é de extremo valor no que diz respeito ao curso radiográfico da doença e que, pacientes com AR cuja história familiar seja positiva, possuem 200% mais chances de desenvolver lesão articular substancial do que pacientes da mesma faixa etária sem história familiar.

Estudos comparativos entre gêmeos monozigóticos e dizigóticos têm sido desenvolvidos visando estimar a contribuição genética para o desenvolvimento da AR. Em populações caucasianas, esta contribuição se mostra em torno de 50–60% (MacGREGOR et al., 2000; SVENDSEN et al., 2002). Entretanto, tal influência pode variar de acordo com a população estudada em decorrência de variações nos

fatores genéticos aditivos e não-aditivos, bem como nos fatores ambientais envolvidos (VISSCHER, HILL, WRAY, 2008).

A pesquisa do FR e do anti-CCP é relevante nos familiares de pacientes com AR, visando a sua detecção precoce e acompanhamento criterioso. MICHOU et al. (2008) sugerem que a AR está entre as DAI mais comuns em familiares de pacientes com AR. São escassos, até o momento, estudos de investigação dos anticorpos anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares do sul do Brasil (SILVA et al., 2006a; MOTA et al., 2009).

3.3 DOENÇAS AUTOIMUNES E AUTO-ANTICORPOS

As doenças autoimunes são reações imunológicas inapropriadamente desencadeadas e dirigidas contra tecidos do próprio hospedeiro. De acordo com o Instituto Nacional de Saúde dos EUA, aproximadamente 23.5 milhões de norte-americanos sofrem de alguma DAI, estimativa que vem aumentando, à medida que se aprimoram os métodos diagnósticos para essas doenças.

Fatores genéticos, imunológicos, hormonais e ambientais estão associados ao desencadeamento das DAI, o que torna complexo o entendimento exato da sua etiologia (SHOENFELD et al., 2008). As respostas autoimunes são freqüentes, porém, falhas na autotolerância permitem que repostas contra células e tecidos próprios se perpetuem, causando dano através de citocinas, anticorpos, imunocomplexos, complemento e linfócitos.

A pesquisa laboratorial de auto-anticorpos representa, na atualidade, o mais valioso instrumento de diagnóstico das diferentes DAI, aliado aos dados clínicos dos pacientes (FIKE, 1997a,b). Os auto-anticorpos tanto podem representar marcadores precoces da doença ou indicadores de prognóstico, como permitem, em algumas situações, o monitoramento da evolução clínica ou da resposta ao tratamento (KISHIYAMA, ADELMAN, 2004; THEISS et al., 2009; KOTZE et al., 2009b).

Como já mencionado, alguns auto-anticorpos podem preceder em anos a manifestação clínica de DAI, como é o caso do anticorpo anti-ilhotas no diabetes *mellitus* insulino-dependente e do anti-CCP na AR, entre outros (HOUSE, NAKAMURA, WINTER, 1998; LINDQVIST et al., 2005). Alguns anticorpos constituem ainda indicadores de prognóstico, tais como o anti-dsDNA para o LES e o

anti-CCP para a AR. Outros, permitem ainda o monitoramento da doença ou da resposta ao tratamento, como é o caso do anticorpo anti-endomísio (EmA-IgA) ou do anti-transglutaminase (tTG-IgA), na DC (VOLTA et al., 1995; KOTZE et al., 2003).

O anticorpo anti-nuclear (FAN) é um auto-anticorpo direcionado contra componentes do núcleo da célula, como nucleoproteínas e ácidos nucleicos. Na população sadia, este anticorpo pode estar presente em um pequeno percentual, sendo sua frequência maior no sexo feminino, elevando-se com a idade. Atualmente, a pesquisa do FAN é realizada em células HEp-2 (células de carcinoma humano de laringe), o que aumentou significativamente sua sensibilidade. Entretanto, houve prejuízo na especificidade do teste, pois alguns indivíduos sem evidência clínica ou laboratorial aparentes de DAI também passaram a apresentar resultados positivos em células HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2009).

Padrões de fluorescência distintos do FAN estão associados a determinados distúrbios e, em alguns casos, são considerados marcadores para algumas doenças. A pesquisa do FAN possibilita a triagem de inúmeras DAI sistêmicas, como LES, síndrome de Sjögren, doença mista do tecido conjuntivo, esclerose sistêmica, entre outras (FIKE, 1997a). O FAN está presente em aproximadamente 90% das doenças do colágeno, porém nem sempre sua positividade se traduz em doença, podendo estar presente em familiares sadios de pacientes com LES e AR, bem como na população sadia, principalmente acima de 60 anos (PENG, CRAFT, 2005; HAYASHI et al., 2008).

Dentre os antígenos nucleares pode-se citar o DNA de dupla fita ou nativo, DNA de cadeia única, proteínas como as histonas e não histonas ácidas, centrômero (CENP-A, CENP-B e CENP-C), topoisomerase I, Jo-1, SS-A/Ro, SS-B/La, RNA nucleolares, polipeptídeos Sm, ciclina e PM-Scl (DELLAVANCE et al., 2003; HABASH-BSEISO et al., 2005).

Nas DAI do fígado, a diferenciação laboratorial entre CBP, hepatite crônica autoimune (HAI) tipo I e hepatite crônica autoimune tipo II, se dá através da pesquisa dos anticorpos anti-mitocôndria (AMA), anti-músculo liso (AML) e anti microssoma de fígado e rim (anti-LKM), respectivamente.

A CBP é uma DAI órgão-específica crônica de caráter progressivo que resulta na destruição dos ductos biliares intra-hepáticos pequenos. Laboratorialmente, é caracterizada pela positividade para o anticorpo AMA. A presença do AMA no soro

do paciente é um achado que corrobora o diagnóstico da CBP devido a sua elevada sensibilidade e especificidade (superiores a 90 – 95%), sendo considerado o principal marcador da doença (FIKE, 1997b). Os auto-antígenos alvos dos AMA estão localizados na membrana mitocondrial interna, destacando-se o complexo piruvato desidrogenase. O motivo pelo qual pacientes com CBP perdem a autotolerância para antígenos existentes em praticamente todas as suas células ainda é desconhecido.

Os anticorpos AMA também podem estar presentes ainda em casos de hepatite crônica ativa e outras doenças hepáticas, como obstrução biliar extra-hepática, hepatite viral, hepatites medicamentosas e neoplasias hepáticas. Em baixos títulos, são encontrados em pessoas saudáveis e pacientes com outras DAI.

As hepatites crônicas autoimunes são classificadas em dois tipos, de acordo com o perfil de auto-anticorpos que apresentam. A HAI tipo I é caracterizada pela positividade dos anticorpos FAN e/ ou AML. Já a hepatite autoimune do tipo II tem como marcador o anticorpo anti-LKM (GRANITO et al., 2009)

O AML é um anticorpo direcionado contra estruturas do citoesqueleto, como microfilamentos (actina e vinculina), filamentos intermediários (vimentina e desmina) e microtúbulos (tubulina) presentes no tecido muscular liso constituinte da mucosa gástrica e da camada média vascular do fígado e rim murinos.

A técnica de imunofluorescência indireta (IFI) é considerada o principal método de detecção dos AML por sua elevada sensibilidade, e utiliza como substrato cortes criostáticos de fígado, rim e estômago de rato. Os padrões de fluorescência peritubular e glomerular gerados a partir da reação com a actina filamentosa são específicos para a hepatite autoimune tipo I (GRANITO et al., 2006).

Por sua vez, os anticorpos anti-LKM são dirigidos contra constituintes das partículas do retículo endoplasmático do fígado e rim, mais especificamente a proteína CYP-450 2D6 do sistema citocromo oxidase. O anticorpo anti-LKM está presente em mais de 90% dos pacientes com hepatite autoimune tipo II, porém pacientes com hepatite C também podem apresentar positividade para este auto-anticorpo.

Outro importante auto-anticorpo órgão-específico é o anti-célula gástrica parietal (anti-CGP), encontrado em pacientes com anemia perniciosa (90%) e gastrite atrófica (60%). A presença desse anticorpo auxilia na confirmação do

diagnóstico clínico, além de ser um marcador precoce e estar associado com o grau de lesão histológica. Também pode ser encontrado em pacientes com tireoidite crônica, síndrome de Sjögren ou úlcera gástrica, com prevalência variando entre 15-32%, além de pacientes com diabetes *mellitus* (21%) (SUGIU et al., 2006).

A pesquisa dos anticorpos EmA-IgA e anti-tTG-IgA têm representado os testes de escolha na triagem sorológica da DC, nas mais diferentes populações, tanto pela especificidade e sensibilidade dos mesmos, como pelo caráter não invasivo e alta correlação com as alterações da mucosa intestinal (UTIYAMA, et al., 2001; KOTZE et al., 2003; UTIYAMA, et al., 2007).

Afecções autoimunes tendem a ocorrer simultaneamente em um mesmo paciente e, dessa forma, pode-se encontrar auto-anticorpos concomitantemente. Por exemplo, um quarto de pacientes com tireoidite autoimune têm auto-anticorpos anti-CGP e quase 50% dos pacientes com anemia perniciosa têm auto-anticorpos para antígenos da tireóide. A concomitância entre DC e DAI da tireóide é freqüente, assim como dessa última e esclerose múltipla. Sugere-se que a predisposição genética está intimamente ligada ao desenvolvimento dessas respostas (BUREK, ROSE, 1995; ALEMANY-RODRIGUEZ et al., 2005; KOTZE et al., 2006).

3.3.1 Doenças autoimunes associadas à Artrite Reumatóide

Estudos recentes têm evidenciado inúmeros avanços no entendimento da fisiopatogenia, aspectos clínicos, terapêuticos e sorológicos da AR. A idade de início da doença, tempo de duração, sexo do paciente e ocorrência de outros sintomas, sistêmicos ou não, têm levado os clínicos a avaliar a associação de outras DAI nesses pacientes (MICHOU et al., 2008a).

A CBP é uma DAI caracterizada pela destruição de ductos biliares, apresentando alta freqüência de manifestações extra hepáticas sistêmicas (BURNEVICH, LOPATKINA, 2006). Embora seja rara sua concomitância com AR, estudos recentes sugerem que essas coexistem em 1.8 a 5.6% dos pacientes com CBP (CARAMELLA et al., 2007). De acordo com SIEGEL et al. (2003), o reumatologista deve estar atento a essa combinação, investigando CBP, através do anticorpo AMA, diante de pacientes com AR apresentando testes hepáticos anormais, os quais nem sempre estão relacionados ao uso de medicamentos.

KOJIMA et al. (2002), em um amplo estudo em pacientes com DAI reumatológicas, observou que 43% desses tinham distúrbios hepáticos de diversas origens, com doença progressiva do fígado associada principalmente aos vírus hepatotrópicos, como o vírus da hepatite C, e às DAI do fígado. A concomitância entre HAI e AR tem sido demonstrada através de estudos recentes que caracterizam a presença do anti-CCP entre 9 a 11% dos pacientes com HAI (FUSCONI et al., 2005; MONTANO-LOZA et al., 2006). De acordo com MONTANO-LOZA et al. (2006), tais pacientes constituem um subgrupo dentro das HAI que têm maior ocorrência de cirrose ao diagnóstico e morte por falência hepática, em relação àqueles negativos para o anti-CCP. FUSCONI et al. (2005) ressaltam ainda o papel preditivo do anti-CCP no desenvolvimento de AR nesses de pacientes. A possível presença de fatores genéticos em comum entre essas doenças respalda o valor da investigação de uma afecção na vigência de outra.

Relatos de caso demonstram ainda a associação de AR com anemia perniciosa, corroborando a importância da investigação do anticorpo anti-CGP nos pacientes com AR (WANG, LIOU, DUNN, 2001). Nesse contexto, AYDOG et al., (2006) observou concomitância entre dermatite herpetiforme, DC, anemia perniciosa e AR em uma paciente de 46 anos, enquanto SONG & CHOI (2004), detectaram o anticorpo anti-tTG IgA em uma paciente de 63 anos com AR. A superposição das DAI relatadas corrobora o valor da pesquisa do EmA-IgA em pacientes com AR.

Distúrbios da tireóide são freqüentemente observados em pacientes com AR, com destaque para a tireoidite de Hashimoto (ATZENI et al., 2008). Positividade para auto-anticorpos da tireóide pode ocorrer em 11% dos pacientes com AR, sendo também freqüente entre seus familiares (ANDONOPOULOS et al., 1996). Apesar da forte associação, existe certa discrepância entre a positividade para auto-anticorpos da tireóide e alterações da função hormonal em pacientes com AR, o que requer avaliação clínica criteriosa (PRZYGODZKA, FILIPOWICZ-SOSNOWSKA, 2009).

A síndrome de Sjögren é uma DAI que acomete as glândulas exócrinas com associação de infiltrados linfocitários. Também conhecida como síndrome *sicca*, seus principais sintomas são olhos e boca seca. A síndrome de Sjögren pode ocorrer de forma isolada ou em associação com outra DAI e, como manifestação extra-articular da AR, é observada em aproximadamente 35% dos pacientes (ANAYA et al., 2006; HEMMINKI et al., 2009).

Apesar de se manifestar principalmente de forma isolada, a superposição entre LES e outras doenças do tecido conectivo pode ocorrer, dentre elas a associação com AR, chamada “*rupus*” (TEHLIRIAN, BATHON, 2008). Recentemente, ZHAO et al. (2009) relataram positividade de 13,8% para anti-CCP em pacientes chineses com LES, sendo sua presença intimamente relacionada ao desenvolvimento da AR e lesões erosivas nesses pacientes.

Até o momento não se têm relatos evidenciando a pesquisa de um amplo perfil de auto-anticorpos em pacientes com AR do sul do Brasil, que permitam avaliar nesses indivíduos a concomitância de doenças como LES, hepatite crônica autoimune, CBP, gastrite atrófica e DC, entre outras.

3.3.2 Doenças autoimunes em familiares de pacientes com Artrite Reumatóide

Ao longo dos últimos anos inúmeros estudos têm evidenciado maior predisposição ao desenvolvimento de DAI entre familiares de pacientes com tais doenças, em comparação a indivíduos da população geral. DAI da tireóide, diabetes *mellitus* insulino-dependente, DC, esclerose sistêmica e AR, entre outras, têm sido demonstradas com maior frequência entre familiares de pacientes acometidos pelas mesmas (UTIYAMA et al., 2001; PRAHALAD et al., 2002; ALEMANY-RODRIGUEZ et al., 2005; UTIYAMA et al., 2007; NASS, 2008). Diversas DAI podem ainda co-existir em um mesmo indivíduo e em seus familiares, sugerindo mecanismos patogênicos comuns. A agregação familiar dessas doenças aumenta as evidências de que fenótipos autoimunes clinicamente diferentes podem compartilhar variantes genéticas de susceptibilidade (ANAYA et al., 2006; KOTZE et al., 2009b).

ANAYA et al. (2006) demonstraram que 38% de pacientes com síndrome de Sjögren possuíam ao menos um familiar de primeiro grau com DAI, comparado a 22% do grupo controle ($p=0.01$), sendo mais comuns as DAI da tireóide, LES e AR. Estudos similares em famílias com múltiplos casos de vitiligo demonstraram elevada frequência de doenças da tireóide, AR, psoríase, anemia perniciosa e doença de Addison nos indivíduos afetados, o que reflete um importante componente genético de susceptibilidade à DAI nos mesmos (LABERGE et al., 2005).

Em familiares de primeiro e segundo grau de pacientes com esclerose múltipla também têm sido caracterizada uma elevada frequência dessa doença, bem

como de outras DAI como doença de Graves, AR, vitiligo, diabetes *mellitus* insulino-dependente, *miastenia gravis* e doenças inflamatórias intestinais, entre outras (HEINZLEF et al., 2000; ALEMANY-RODRIGUEZ et al., 2005; BARCELLOS et al., 2006). Tais autores relatam ainda inúmeros casos de concomitância de esclerose múltipla com outra DAI no mesmo indivíduo, ressaltando como fatores de risco genes de susceptibilidade em comum.

De acordo com PRAHALAD et al. (2002), a prevalência de outras DAI em familiares de primeiro (16.1%) e segundo grau (10.6%) de pacientes com artrite idiopática juvenil (AIJ) é significativamente superior em relação a familiares de indivíduos sadios da população (4.0%; $p < 0.001$). A tireoidite de Hashimoto foi a DAI detectada com maior frequência, comparada às demais doenças avaliadas. HUANG, YANG, CHIANG (2004), por sua vez, caracterizaram prevalência maior de DAI em familiares de pacientes com LES (20.9%) do que nos familiares de pacientes com AIJ (11.8%), ao avaliar a ocorrência de LES, AR, AIJ, esclerose múltipla, síndrome de Sjögren, *miastenia gravis*, psoríase e doenças da tireóide nos mesmos.

ARLEEVSKAIA, SHILKINA, TSIBUL'KIN (2005) demonstraram sintomas de disfunção imunológica em 87.5% dos familiares de primeiro grau, do sexo feminino, de pacientes com AR. Os autores caracterizaram DAI em 64.3% desses familiares e doenças infecciosas e alergias em 51.8% e 12.5%, respectivamente.

Recentemente, HEMMINKI et al. (2009) avaliaram o risco para diversas DAI em indivíduos com história familiar de AR da população suíça. O elevado risco para o desenvolvimento de doenças como espondilite anquilosante, esclerodermia, síndrome de Sjögren, LES, esclerose sistêmica, tireoidite de Hashimoto, anemia perniciosa, entre outras, encontrado nesse grupo sugere um intenso compartilhamento de genes de suscetibilidade entre essas doenças. Por sua vez, MICHOU et al. (2008b) encontraram na população francesa elevada prevalência de AR, DAI da tireóide e vitiligo em familiares de pacientes com AR.

Devido ao forte caráter genético, a ocorrência de múltiplos casos de DAI em uma mesma família é muito freqüente. Nesse contexto, familiares de pacientes com AR são considerados um grupo de risco para o desenvolvimento tanto da própria AR como de outras DAI e, portanto, necessitam de acompanhamento regular a fim de diagnosticar precocemente tais doenças e evitar suas morbidades (MELLEMKJAER et al., 2008; MICHOU et al., 2008b).

Tais aspectos justificam o valor dos estudos de triagem de auto-anticorpos nesse grupo de indivíduos.

A pesquisa laboratorial de auto-anticorpos tem representado o instrumento mais valioso na confirmação do diagnóstico das inúmeras DAI citadas, aliados aos dados clínicos, radiográficos e/ou ecográficos dos indivíduos avaliados.

Até o momento, são escassos os relatos de triagem de auto-anticorpos em familiares de pacientes com AR do sul do Brasil.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 APROVAÇÃO PELO COMITE DE ÉTICA

O presente estudo constitui uma investigação de caráter imunológico, transversal e interinstitucional, realizado através da parceria entre a Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná e o Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, tendo sido previamente aprovado pelo Comitê de Ética e Direção das referidas Instituições (Anexo 1).

4.2 CASUÍSTICA

4.2.1 Pacientes com Artrite Reumatóide

Fazem parte do estudo um total de 156 pacientes atendidos no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Evangélico de Curitiba.

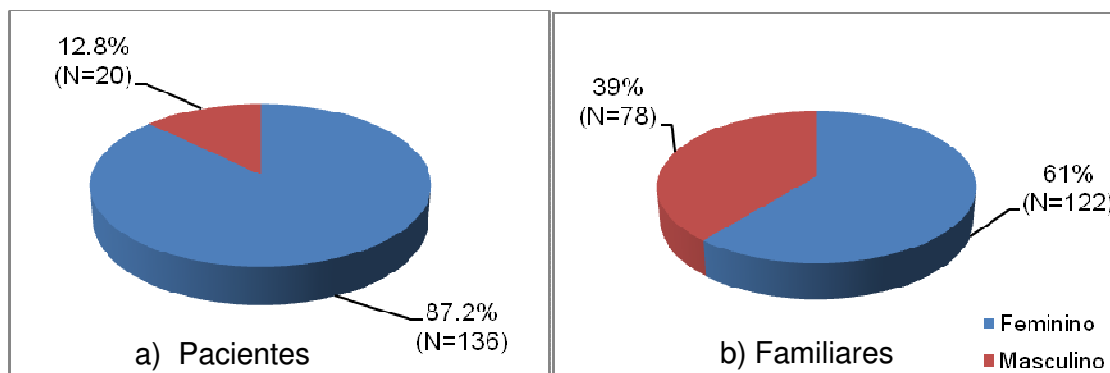
Atualmente o referido Ambulatório possui aproximadamente 500 pacientes com AR registrados, sendo realizadas, em média, 20 a 30 consultas por semana. Por ocasião dessas consultas, os pacientes foram informados sobre o projeto e convidados a participar do estudo, juntamente com seus familiares.

Todos os indivíduos receberam os devidos esclarecimentos sobre o projeto e, aqueles que concordaram em participar, após consentimento formal, tiveram sua amostra de sangue coletada entre agosto de 2007 e abril de 2009.

Os pacientes com AR foram selecionados consecutivamente frente aos seguintes critérios de inclusão: o paciente deveria atender ao menos 4 critérios de diagnóstico estabelecidos pelo ACR (ARNETT et al., 1988), deveria ser maior de 18 anos e a idade de início da doença deveria ser posterior aos 16 anos. Com relação aos critérios de exclusão, foram rejeitados para o estudo pacientes menores de 18 anos ou cuja idade de início da doença era inferior a 16 anos. Os dados demográficos dos pacientes foram coletados através de questionário e/ ou análise de prontuário (Tabela 2).

Foram analisadas amostras de soro de 156 pacientes, dos quais 136 (87.2%) eram do sexo feminino e 20 (12.8%) eram do sexo masculino (Gráfico 1a), com idade variando de 24 a 84 anos (média 51.3 anos) no momento da coleta do sangue (Apêndice 1).

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES DE ACORDO COM O SEXO



Visando análises e correlações clínicas posteriores, foram levantados dados referentes à idade de início da doença (18 a 30 anos, > 30 a 60 anos, e > 60 anos), duração da doença (6 a 24 meses, >2 a 10 anos, > 10 anos), atividade da doença (classes I, II, III e IV), presença de manifestações extra-articulares como nódulos reumatóides e concomitância de outras DAI, uso de tabaco e tratamento atual (DMARD ou imunobiológicas). Todos esses dados podem ser observados no Apêndice 1 e Tabela 1.

4.2.2 Familiares de pacientes com Artrite Reumatóide

Durante as consultas periódicas, os pacientes foram convidados a trazer seus familiares para participar do projeto, no total 200 familiares participaram do estudo. O critério de inclusão principal foi ser familiar de 1º ou 2º grau de paciente com AR. Após consentimento formal e assinatura do termo de consentimento, todos os 200 familiares tiveram uma amostra de sangue coletado, o que correspondeu a 78 famílias, totalizando uma proporção de 2.6 familiares por paciente. Destes, 61% (122/ 200) eram do sexo feminino e 39% (78/ 200) eram do sexo masculino (Tabela 2; Gráfico 1b). De acordo com a idade, os familiares foram divididos em 3 grupos: 0

a 16 anos (12.5%; 25/ 200), > 16 a 60 anos (80.5%; 161/ 200) e acima de 60 anos (7%; 14/ 200), com idade variando entre 7 e 91 anos (média = 36.7 anos; Gráfico 2). Com relação ao grau de parentesco, 94% (188/ 200) são familiares de primeiro grau e 6% (12/ 200) de segundo grau (Gráfico 3; Apêndice 2).

**TABELA 1 - DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS DOS
PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE**

	Pacientes %(N)
Fumantes	44.0 (63/ 143)
Idade de início da doença (média)	42.4
18 a 30 anos	25.6 (40/ 156)
31 a 60 anos	66.7 (104/ 156)
> 60 anos	7.7 (12/ 156)
Duração da doença (média)	8.9 anos
6 a 24 meses	23.1 (36/ 156)
>2 a 10 anos	46.2 (72/ 156)
> 10 anos	30.8 (48/ 156)
Atividade funcional	
Classe I	48.1 (75/ 156)
Classe II	36.5 (57/ 156)
Classe III	12.2 (19/ 156)
Classe IV	3.2 (5/ 156)
Manifestações extra-articulares	
Nódulos reumatóides	9.0 (14/ 156)
Síndrome de Sjögren	30.0 (43/ 143)
Tireoidite	10.9 (17/ 156)

Através de questionário aplicado no momento da coleta do sangue (Anexo 3), foram levantadas informações à respeito do uso de álcool e tabaco, sintomas articulares, alterações gastrointestinais, anemia, problemas hepáticos e distúrbios da tireóide. Também foram registrados dados referentes a doenças anteriores e/ ou atuais e medicamentos em uso.

GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA

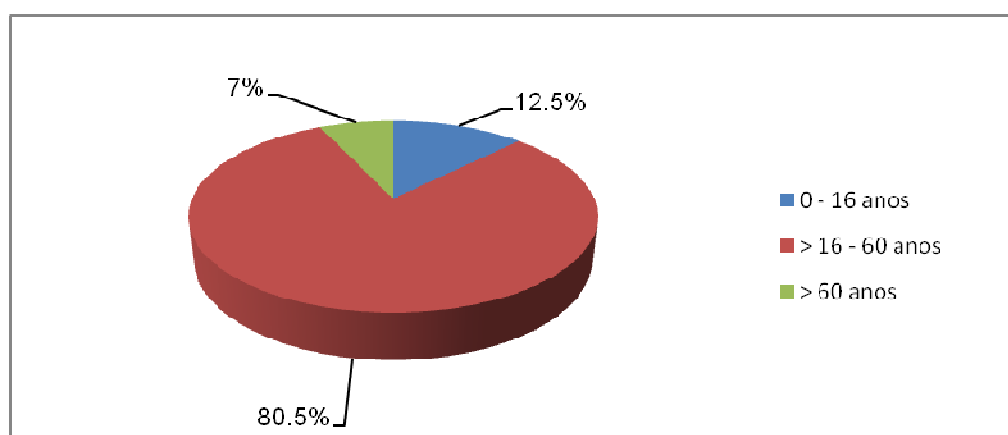
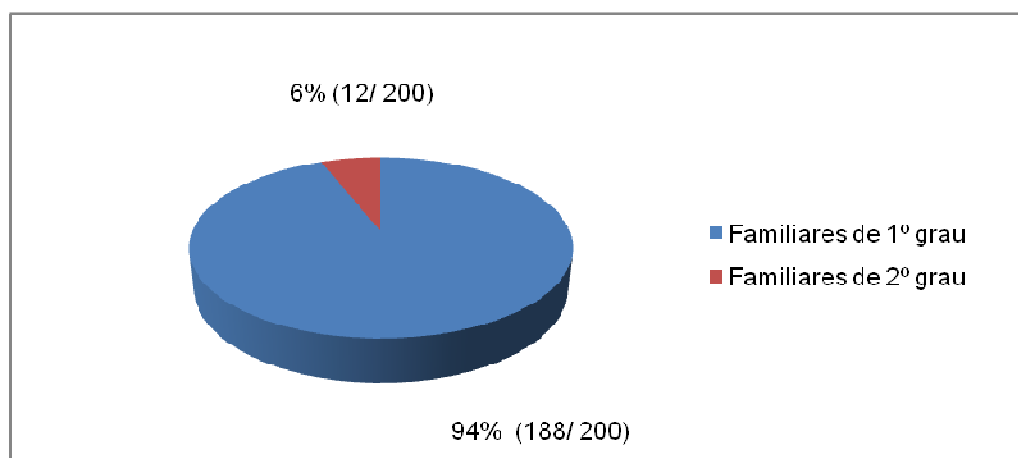


GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE DE ACORDO COM O GRAU DE PARENTESCO



4.2.3 Grupo de comparação

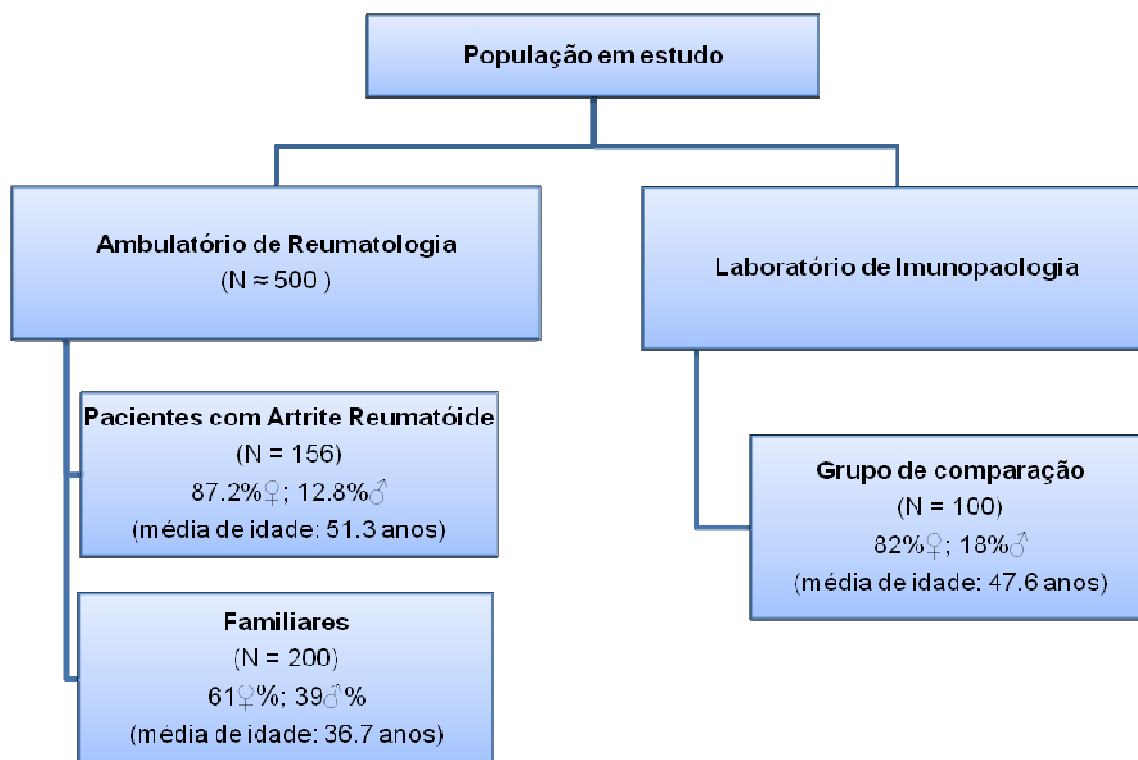
Como grupo de comparação, foram estudadas amostras de soros de 100 indivíduos voluntários e sadios, que declararam não ter familiares com AR. As amostras de sangue desses indivíduos fazem parte da soroteca do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas - UFPR. Tais amostras foram obtidas de profissionais e estudantes da área da saúde, os quais tiveram seu sangue coletado após esclarecimento e consentimento formal prévios. Esses eram de origem européia, oriundos da mesma área geográfica dos pacientes com AR e seus familiares, e apresentavam a maior proximidade possível em relação ao sexo e idade dos pacientes. A idade dos indivíduos variou de 23 a 81 anos, com média de 47.6 ± 15.8 anos, sendo 82% (82/ 100) do sexo feminino e 18% (18/ 100) do sexo masculino (Tabela 2). Os dados do grupo de comparação como número, idade, sexo e auto-anticorpos podem ser verificados no Apêndice 3 .

No Fluxograma 1 está representada a distribuição dos indivíduos em estudo nos diferentes grupos.

TABELA 2 - DADOS DEMOGRÁFICOS DOS GRUPOS EM ESTUDO

Grupos	Pacientes % (N)	Familiares % (N)	Familiares de 1º grau % (N)	Familiares de 2º grau % (N)	Grupo de Comparação % (N)
Total	156	200	94 (188/ 200)	6 (12/ 200)	100
Idade média	51.3	36.7	37.3	27.8	47.6
(faixa etária)	(24 – 84)	(7 – 91)	(7 – 91)	(8 – 63)	(23 – 81)
Feminino	87.2 (136/ 156)	61.0 (122/ 200)	60.1 (113/ 188)	66.7 (8/ 12)	82.0 (82/ 100)
Masculino	12.8 (20/ 156)	39.0 (78/ 200)	39.9 (75/ 188)	33.3 (4/ 12)	18.0 (18/ 100)

FLUXOGRAMA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS EM ESTUDO NOS DIFERENTES GRUPOS



4.3 METODOLOGIA

4.3.1 Obtenção das amostras

Após prévio esclarecimento e consentimento dos indivíduos incluídos nos grupos em estudo, foi coletada uma amostra de 10ml de sangue venoso sem anticoagulante, bem como 10ml de sangue venoso em tubo com EDTA. Em seguida, o material foi centrifugado por 10min. a 3.500rpm (Centrífuga Eppendorf 5416, Hamburg, Alemanha) e as amostras de soro foram subdivididas em 3 alíquotas, as quais foram armazenadas à temperatura de -80°C, até serem utilizadas nas determinações laboratoriais. A coleta de sangue foi realizada no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Evangélico de Curitiba e as determinações laboratoriais foram realizadas integralmente no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR.

As coletas do sangue de pacientes e familiares tiveram início, a partir da aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica do Paraná e pela Direção do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (agosto de 2007), e foram encerradas em abril de 2009.

4.3.2 Pesquisa de auto-anticorpos

Todas as amostras de soros dos grupos em estudo foram investigadas para os anticorpos anti-CCP, por ensaio de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA), utilizando-se kits comerciais (Inova Diagnostics Inc., San Diego, CA, USA). A pesquisa do FR foi realizada por técnica de aglutinação em látex (BioSystems, S.A., Barcelona, Espanha). Por técnica de IFI, foram investigadas a presença dos auto-anticorpos anti-músculo liso (AML), anti-mitocôndria (AMA), anti-microsoma de fígado e rim (LKM), anti-célula gástrica parietal (CGP), anti-endomísio (EmA-IgA) e anti-nuclear (FAN). As amostras positivas para o FAN foram avaliadas para a presença do anticorpo anti-dsDNA, por IFI.

4.3.3 Pesquisa do anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado (anti-CCP)

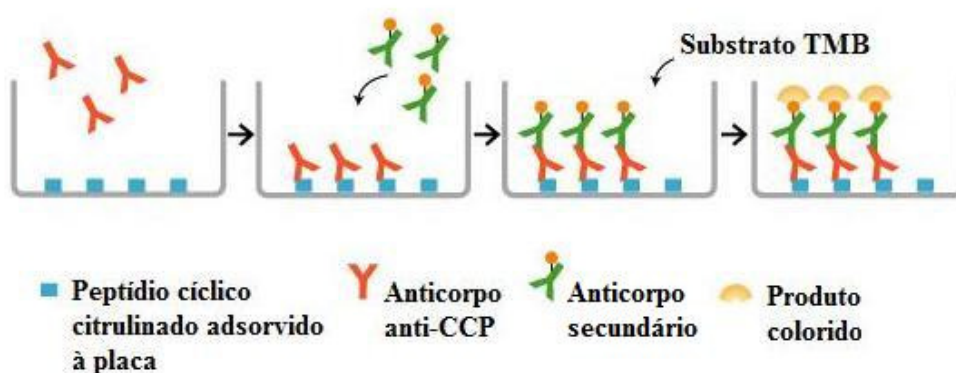
Todas as amostras foram diluídas na proporção 1:101, em tampão de diluição (solução tampão salina Tris, Tween 20, estabilizadores protéicos e conservante). Os controles negativo, positivos alto e baixo não necessitavam de diluição prévia. Em seguida, aplicou-se 100µl de cada amostra e controles aos micropoços de poliestireno revestidos com antígeno purificado. Após incubação de 30min. em temperatura ambiente (20°C-26°C), fez-se 3 lavagens com tampão de lavagem específico (solução tampão salina Tris e Tween 20) para a remoção dos anticorpos que não se ligaram.

Após as lavagens, foi adicionado o anticorpo secundário conjugado (anticorpo anti-IgG ligado à peroxidase). Nesta etapa, o anticorpo secundário liga-se ao anticorpo primário, formando um complexo. A reação ocorre em 30min. à temperatura ambiente.

O excesso de anticorpo secundário que não se ligou foi removido por 3 lavagens com tampão de lavagem e, em seguida foram adicionados, a cada poço, 100µl do cromógeno tetrametilbenzidina, fornecedor de hidrogênio para a reação do substrato peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com a peroxidase. Após nova incubação por 30min. à temperatura ambiente e no escuro, adiciona-se a solução de parada (ácido sulfúrico 0.344mols/l) em cada escavação da placa (Figura 17)

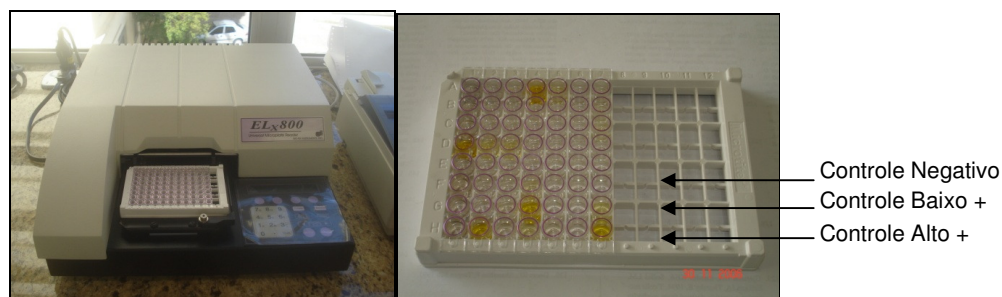
A reação enzimática gera um produto colorido cuja intensidade de cor foi aferida em leitor de ELISA (Organon Teknika Reader 530 version 1,24), a 450nm (Figura 18).

FIGURA 17 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE ELISA PARA O ANTI-CCP



FONTE: Adaptado de www.mbl.co.jp/diagnostic/measurement.html

FIGURA 18 - LEITOR DE ELISA E PLACA UTILIZADA NAS REAÇÕES



FONTE: O autor (2009)

O cálculo da concentração de anti-CCP foi realizado por comparação da cor desenvolvida nas amostras, em relação à cor obtida nos controles, conforme orientação do fornecedor. A reatividade para cada amostra foi calculada pela divisão

da média da absorbância da amostra pela média da absorbância do controle baixo positivo. O resultado foi multiplicado pelo número de unidades encontradas no controle baixo positivo.

$$\text{Título da amostra} = \frac{\text{absorbância amostra}}{\text{absorbância controle baixo positivo}} \times \text{valor do controle baixo positivo}$$

(unidades) (unidades)

Os resultados das amostras foram classificados como negativo, positivo fraco, moderado ou forte, de acordo com os dados sugeridos pelo fornecedor, conforme especificado na Tabela 3.

TABELA 3 - RESULTADO DAS AMOSTRAS DE SOROS PARA O ANTI-CCP DE ACORDO COM AS UNIDADES OBTIDAS

RESULTADO	UNIDADES
Negativa	<20
Fracamente positiva	20 – 39
Moderadamente positiva	40 – 59
Fortemente positiva	≥ 60

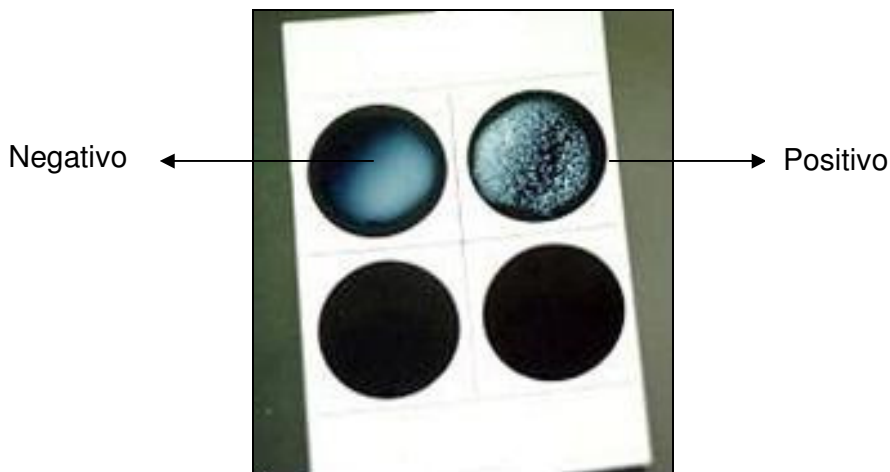
FONTE: Inova Diagnostics Inc., (San Diego, USA)

4.3.4 Pesquisa do Fator Reumatóide

O FR-IgM foi investigado nas amostras através da técnica de aglutinação em látex, de acordo com PLOTZ e SINGER (1956), utilizando kits comerciais (BioSystems, S.A., Barcelona, Espanha). Essa se baseia na reação entre o FR presente nos soros teste e as partículas de látex de poliestireno sensibilizadas por IgG humana. Com a adsorção passiva de IgG às partículas do látex, ocorre exposição dos determinantes de IgG que reagem com o FR, resultando em uma reação de aglutinação. Na placa de precipitação são adicionados volumes iguais de soro e látex sensibilizado, homogeneiza-se por agitação, durante 2min. São consideradas positivas as amostras com nítida aglutinação, sendo essas, então,

diluídas em cloreto de sódio 0,9% e re-testadas para definição do título final da reação. Controles positivos e negativos foram incluídos em cada bateria de reação (Figura 19).

FIGURA 19 - AGLUTINAÇÃO EM LÁTEX PARA A DETERMINAÇÃO DO FR



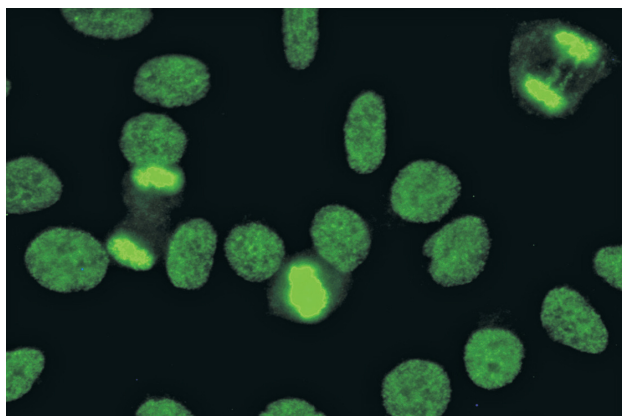
FONTE: O Autor (2009)

4.3.5 Pesquisa do anticorpo anti-nuclear (FAN)

Para a pesquisa do anticorpo FAN foram utilizados sistemas comerciais (Wama Diagnóstica, São Carlos, SP, Brasil). As amostras de soro foram diluídas à 1:80 e aplicadas em lâminas contendo como substrato células de cultura de tecido HEp-2, fixadas em cavidades, sendo incubadas por 30min. à temperatura ambiente. Após incubação e lavagem das lâminas por três vezes com tampão fosfato salina (PBS), procede-se nova incubação com conjugado (anti-IgG humana marcado com isotiocianato de fluoresceína), sob as mesmas condições. Em seguida, realiza-se nova lavagem e montagem das lâminas com glicerina tamponada.

A leitura feita em microscópio de fluorescência (Olympus, Japão), por dois observadores, independentemente, seguindo os critérios de leitura e caracterização dos padrões de fluorescência estabelecidos pelo II e III Consenso Brasileiro de FAN em células HEp-2 (DELLAVANCE et al., 2003; DELLAVANCE et al., 2009) (Figuras 20 e 21).

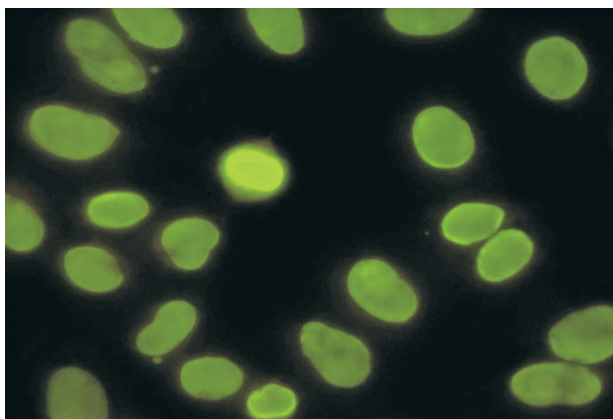
FIGURA 20 - FAN: PADRÃO NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO



LEGENDA: As células apresentam nucleoplasma com textura finamente pontilhada homogênea e placa metafásica corada na mesma textura.

FONTE: DELLAVANCE et al.,(2009)

FIGURA 21 - FAN: PADRÃO NUCLEAR HOMOGÊNEO



LEGENDA: As células apresentam nucleoplasma fluorescente e nucléolo não visualizado pela sobreposição da coloração.

FONTE: DELLAVANCE et al.,(2009)

Todas as amostras positivas nos testes de triagem foram re-testadas para definição do título final de auto-anticorpos. Consideram-se positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:80.

Todas as amostras positivas para o FAN HEp-2 foram investigadas para a presença do anticorpo anti-dsDNA, por IFI (Biosystems, Barcelona, Espanha), empregando como substrato *Crithidia luciliae*. A diluição inicial de triagem foi 1:10.

4.3.6 Pesquisa de auto-anticorpos órgão específicos

As determinações dos auto-anticorpos AML, AMA, LKM, CGP e EmA-IgA foram realizadas por técnica de IFI, conforme metodologia previamente descrita (RIZZETO, SWANA, DONIACH, 1973; BIGAZZI, ROSE, 1984; VOLTA et al., 1995).

4.3.6.1 Preparo dos substratos

A pesquisa de auto-anticorpos órgão-específicos foi realizada através de técnica de IFI e envolveu os substratos representados no Quadro 4:

QUADRO 4 - AUTO-ANTICORPOS E RESPECTIVOS SUBSTRATOS
ANTIGÊNICOS EMPREGADOS NAS REAÇÕES DE IFI

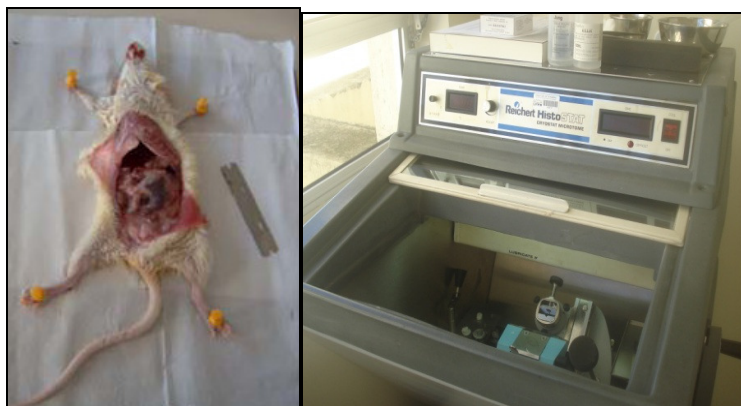
AUTO-ANTICORPOS	SUBSTRATOS
Anti Músculo Liso	Estômago de rato
Anti Mitocôndria	Rim de rato
Anti LKM	Rim e Fígado de rato
Anti Célula Gástrica Parietal	Estômago de rato
Anti Endomísio – IgA	Cordão umbilical humano

FONTE: RIZZETTO, SWANA, DONIACH (1973); BIGAZZI, ROSE (1984); VOLTA et al., 1995

Para a obtenção dos órgãos de rato é necessária a aquisição de um animal de aproximadamente 4 meses, fêmea, fornecido pelo biotério da UFPR. O animal é mantido em jejum por 2 dias e, após sacrifício, realiza-se dissecação de estômago, rim e fígado, seguida de lavagem exaustiva soro fisiológico. Estes órgãos são clivados e imersos em OCT-Tissue Tek (Miles, USA) e rapidamente congelados em nitrogênio líquido (Figura 22). Os blocos são mantidos em freezer à -80°C até que

sejam feitos cortes criostáticos de 3µm de espessura (Reichert Histostat, USA). As lâminas contendo os cortes são mantidas à -20°C até o momento do uso nas reações.

FIGURA 22 - PREPARO DOS SUBSTRATOS UTILIZADOS NAS REAÇÕES DE IFI



FONTE: O Autor (2009)

4.3.6.2 Reações de Imunofluorescência Indireta

Para a pesquisa dos auto-anticorpos AML, AMA, LKM e CGP as amostras foram diluídas à 1:20 e 1:40 em tampão PBS, pH 7.2. Os soros teste e controles positivos e negativos foram aplicados sobre as lâminas contendo os substratos específicos para cada auto-anticorpo, as quais foram incubadas por 30min. à temperatura ambiente. Após incubação e lavagem das lâminas com PBS, incubou-se novamente com conjugado fluorescente anti-Ig humana (GMK, Porto Alegre, RS) durante 30min. Em seguida, realizou-se a montagem das lâminas com glicerina alcalina.

A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (Olympus, Japão), por dois observadores, independentemente (Figura 23). O antígeno alvo do AML é a actina F do músculo, sendo a fluorescência detectada nas células da musculatura lisa de maneira uniforme ou granular (Figura 24). O AMA apresenta o complexo da enzima piruvato desidrogenase (70kDa e 48kDa) como antígeno alvo e cora intensamente o citoplasma de células epiteliais de túbulos distais (granular fino) e

das alças de Henle, e de forma mais fraca os túbulos proximais (Figura 25). O anti-LKM possui como antígeno alvo o retículo endoplasmático liso e rugoso (50kDa), e no fígado cora o citoplasma do hepatócito (granular fino difuso), enquanto no rim cora o epitélio renal tubular proximal (Figura 26). O anti-CGP tem como antígeno alvo as subunidades α e β da adenosina trifosfatase gástrica H/K (ATPase) e cora o citoplasma das células parietais da mucosa gástrica fúndica (Figura 27).

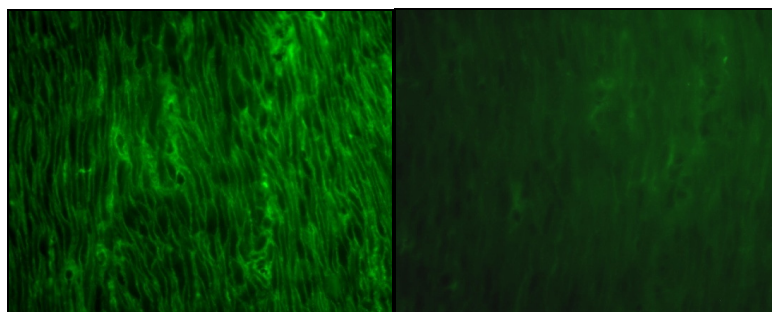
FIGURA 23 - MICROSCÓPIO DE FLUORESCÊNCIA UTILIZADO NA LEITURA DAS REAÇÕES DE IFI



FONTE: O autor (2009)

Todas as amostras positivas nos testes de triagem foram re-testadas para definição do título final de auto-anticorpos. Considerou-se positivas as reações com títulos iguais ou superiores a 1:40 para AML e CGP, e iguais ou superiores a 1:20 para LKM e AMA.

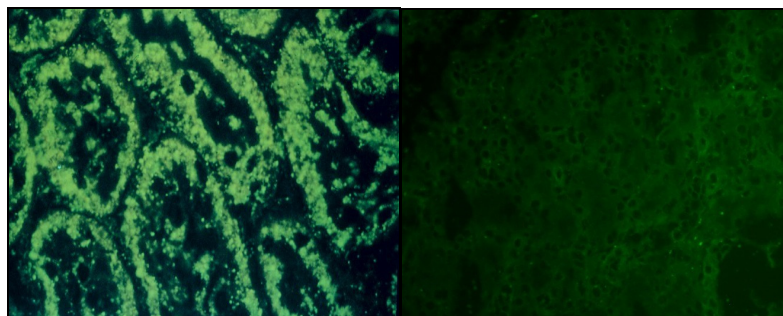
FIGURA 24 - IFI PARA ANTICORPO AML



NOTA: Reação positiva

Reação negativa

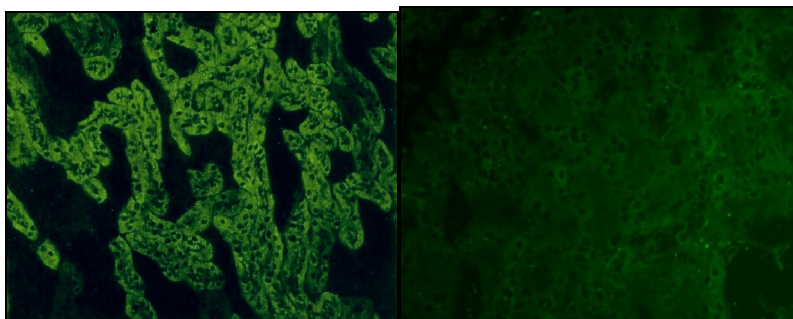
FIGURA 25 - IFI PARA ANTICORPO AMA



NOTA: Reação positiva

Reação negativa

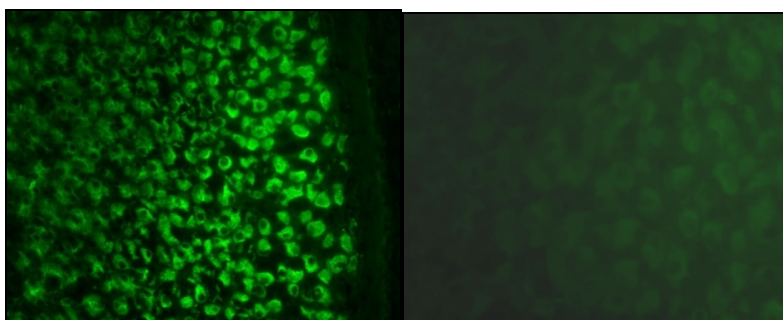
FIGURA 26 - IFI PARA ANTICORPO LKM



NOTA: Reação positiva

Reação negativa

FIGURA 27 – IFI PARA ANTICORPO ANTI-CGP



NOTA: Reação positiva

Reação negativa

4.3.6.3 Pesquisa do anticorpo anti-endomísio

O EmA-IgA foi investigado por IFI, utilizando-se como substrato cortes criostáticos de cordão umbilical humano, conforme descrito por LADINSER, ROSSIPAL e PITTSCHIELER (1994).

4.3.6.4 Preparo do substrato para o EmA-IgA

O cordão umbilical humano é obtido de gestantes saudáveis atendidas no Centro Obstétrico do Hospital de Clínicas da UFPR no momento do parto. Após a excisão do cordão, um pequeno fragmento deste é mergulhado em solução salina 0,9% e transportado ao Laboratório de Imunopatologia, onde é seccionado, transversalmente, em pequenos blocos. Esses são mergulhados em OCT-Tissue Tek (Miles, USA), e rapidamente congelados em nitrogênio líquido, sendo então mantidos à temperatura de -80°C. São realizados cortes criostáticos de 3µm de espessura (Reichert Histostat, USA) os quais são colocados sob lâminas de vidro e mantidos em freezer à -20°C até o momento de uso nas reações de IFI.

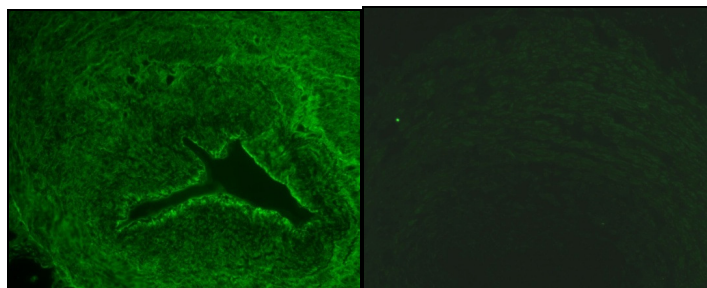
4.3.6.5 Reação de IFI para o EmA-IgA

As amostras de soro em estudo foram submetidas a diluição inicial de triagem (1/2,5) em tampão PBS, pH 7.2, e aplicadas sobre as lâminas contendo o substrato. Após incubação em câmara úmida (30 min., temperatura ambiente) e lavagem das lâminas com PBS (3 vezes, 5 min. cada vez), os cortes foram cobertos com o conjugado fluorescente anti-IgA humano (GMK, Porto Alegre, RS), previamente titulado. Procede-se nova incubação e lavagem das lâminas como já descrito, e montagem com glicerina alcalina.

As leituras foram realizadas em microscópio de fluorescência (Olympus, Japão; Figura 23), sendo consideradas positivas as amostras que caracterizassem fluorescência a partir da diluição 1/2.5, no tecido de endomísio (substância intermiofibrilar) que contorna as fibras de músculo liso na parede dos vasos e

artérias do cordão umbilical (Figura 28). Todos os soros positivos na diluição inicial de triagem são re-testados para definição do título final de anticorpos. Controles positivos e negativos foram incluídos em cada bateria de testes.

FIGURA 28 - IFI PARA ANTICORPO EmA-IgA



NOTA: Reação positiva

Reação negativa

4.3.7 Correlação clínico-laboratorial

Os dados clínicos e demográficos dos pacientes e familiares, informados nos itens 4.2.1 e 4.2.2 respectivamente, foram avaliados e compilados através dos prontuários médicos e questionários aplicados no momento da coleta de sangue. Esses dados foram submetidos à análise visando associação com dados laboratoriais obtidos nas determinações séricas do anti-CCP, FR-IgM e demais auto-anticorpos investigados.

4.3.8 Análise estatística

Os resultados obtidos na determinação do anti-CCP, FR e outros auto-anticorpos foram organizados em planilhas, tabelas e gráficos, visando à análise dos dados e associação com parâmetros clínicos e demográficos dos pacientes com AR e familiares.

As análises de associação foram realizadas através de tabelas de contingência 2x2, aplicando-se testes do qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher, quando adequados. As comparações entre médias foram feitas através do teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. O coeficiente de

correlação de Spearman foi utilizado para se determinar a significância de correlação entre variáveis e para se conhecer a sua magnitude. Para auxiliar tais análises foram utilizados os programas Statistica 5.5 (StatSoft) e Prism 4.0 (GraphPad Software).

A análise de variância multivariada foi empregada para interpretar e medir a correlação entre as variáveis do conjunto de dados, tendo-se optado por analisar todas juntas, o que permite ter a variável resposta (CCP e FR) incluída no gráfico. A análise de co-variância foi realizada visando aumentar a precisão na avaliação das estimativas de parâmetros.

A regressão logística dos dados permitiu fazer a análise das proporções, com cálculo do *odds ratio*, e intervalo de confiança de 95%, baseando-se em uma variável contínua e uma variável de categoria. Foram consideradas variáveis independentes sexo, tabagismo, idade de início de doença, tempo de duração de doença, classe funcional, nódulos reumatóides, síndrome de Sjögren e tireoidite. Como variáveis dependentes foram considerados $CCP \geq 20U$ e $FR \geq 30UI/ml$. Para a análise multivariada, análise de co-variância e regressão logística foi utilizado o programa Statistica 8.0 (StatSoft). Valores de p menores que 0.05 foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos na investigação dos anticorpos anti-CCP, FR e demais auto-anticorpos em pacientes com AR, familiares e grupo de comparação encontram-se relacionados nos Apêndices 1, 2 e 3, respectivamente.

5.1 ANTICORPO ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR, FAMILIARES E GRUPO DE COMPARAÇÃO

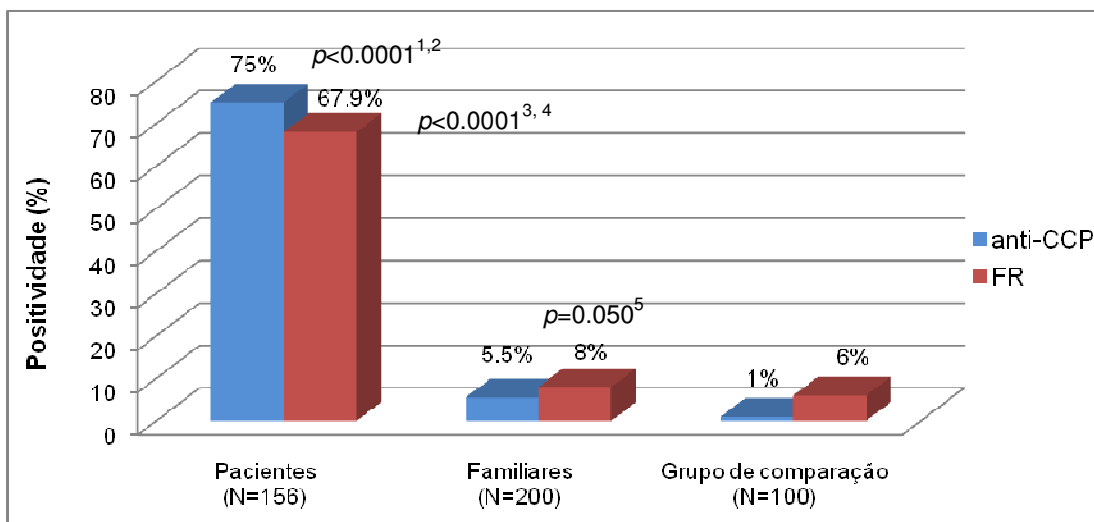
Dentre os 156 pacientes com AR, 75% (117/ 156) apresentaram positividade para anti-CCP, enquanto FR foi positivo em 67.9% (106/ 156). Ambos diferiram significativamente do grupo de comparação, que apresentou positividade de 1% (1/ 100) para anti-CCP e 6% (6/ 100) para FR ($p<0.0001$ e $p<0.0001$ respectivamente). Nos familiares de pacientes com AR, observou-se elevação significativa na positividade do anti-CCP (5.5%; 11/ 200) em relação aos indivíduos sadios (1%; 1/100; $p=0.050$), enquanto para FR não foram observadas diferenças significantes entre ambos (8%, 16/200 vs. 6%, 6/100; $p=NS$). As comparações de frequência do anti-CCP e FR entre pacientes e familiares também evidenciaram diferenças significativas ($p<0.0001$ e $p<0.0001$, respectivamente). O Gráfico 4 permite verificar a positividade para anti-CCP e FR nas amostras de pacientes com AR, familiares e grupo de comparação, bem como as análises entre os grupos.

Do total de 156 pacientes analisados para anti-CCP e FR, 60.9% (95/ 156) apresentaram positividade concomitante para ambos, 7% (11/ 156) foram positivos apenas para FR, 14.1% (22/ 156) apenas para anti-CCP e 17.9% (28/ 156) foram negativos para ambos (Gráfico 5a). Entre os familiares verificou-se 2.5% (5/ 200) de positividade concomitante para anti-CCP e FR, sendo a positividade isolada para apenas um desses auto-anticorpos igual a 5.5% (11/ 200) e 3% (6/ 200), respectivamente (Gráfico 5b).

Uma correlação significativa entre as concentrações de anti-CCP e os títulos de FR foi observada nos pacientes ($r=0.43$; $p<0.0001$; Teste de Spearman).

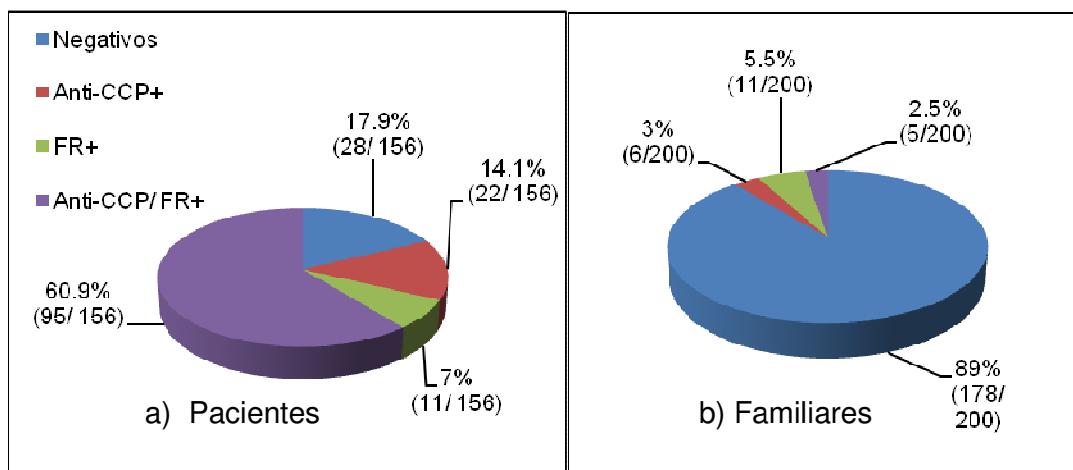
A sensibilidade e especificidade para anti-CCP, FR e anti-CCP/ FR concomitantes obtidas no presente estudo se encontram no Quadro 5.

GRÁFICO 4 - POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR NOS GRUPOS EM ESTUDO



NOTA: ¹ Pacientes anti-CCP+ vs. Grupo de comparação anti-CCP+: $p < 0.0001$
² Pacientes anti-CCP+ vs. Familiares anti-CCP+: $p < 0.0001$
³ Pacientes FR+ vs. Grupo de comparação FR+: $p < 0.0001$
⁴ Pacientes FR+ vs. Familiares FR+: $p < 0.0001$
⁵ Familiares anti-CCP+ vs. Grupo de comparação anti-CCP+: $p = 0.050$. Teste de Fisher

GRÁFICO 5 – ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES



QUADRO 5 - SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE PARA ANTI-CCP, FR E ANTI-CCP/ FR CONCOMITANTES

	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Anti-CCP	75	99
FR	68	94
Anti-CCP/ FR	60	100

5.1.1 Positividade para anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares em relação ao sexo

Anti-CCP foi positivo em 74.3% (101/ 136) dos pacientes do sexo feminino e em 80% (16/ 20) do sexo masculino. De forma similar, 66.2% (90/ 136) dos pacientes do sexo feminino e 80% (16/ 20) do sexo masculino foram positivos para FR. Dentre os pacientes do sexo feminino, 58.8% (80/ 136) apresentaram positividade concomitante para anti-CCP/ FR, enquanto no sexo masculino, obteve-se 75% (15/ 20) de positividade concomitante. A comparação da frequência entre sexo feminino e masculino não evidenciou diferença significativa nos grupos avaliados (Gráfico 6).

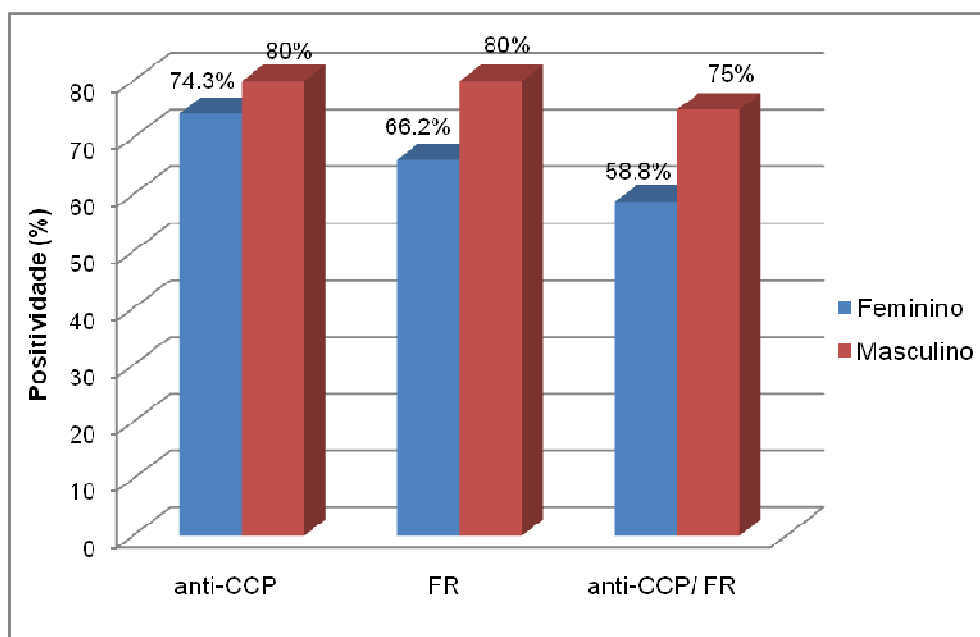
Em relação aos familiares do sexo feminino, 7.4% (9/ 122) foram positivos para anti-CCP e 10.6% (13/ 122) para FR. Nos familiares do sexo masculino a positividade foi de 2.6% (2/ 78) para anti-CCP e 3.8% (3/ 78) para FR. Dentre os familiares do sexo feminino, 4.1% (5/ 122) apresentaram positividade concomitante para anti-CCP/ FR em relação a 0% (0/ 78) do sexo masculino. Embora para anti-CCP não se obteve diferença significativa, um aumento na positividade do FR e do anti-CCP/FR concomitantes foi observada nos familiares do sexo feminino, quando comparados ao masculino ($p=0.067$ e $p=0.082$, respectivamente; Gráfico 7).

5.1.2 Positividade para anti-CCP e FR em pacientes com AR e familiares em relação à idade

A faixa etária dos pacientes positivos para anti-CCP variou entre 24 e 84 anos (média = 52.6 ± 12.4 anos) e para FR, entre 24 e 80 anos (média = 51.5 ± 11.7 anos). A média de idade dos pacientes positivos concomitantemente para anti-CCP/FR foi de 52.1 ± 11.8 anos (24-80; Gráfico 8).

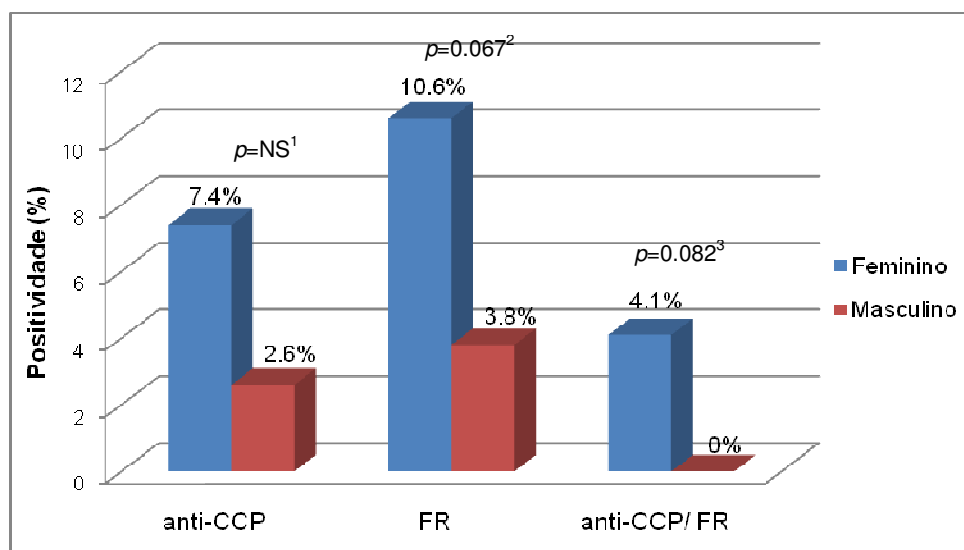
Por sua vez, a faixa etária dos familiares positivos para anti-CCP variou entre 16 a 65 anos (média = 39.4 ± 15.9 anos), para FR de 8 a 70 anos (média = 39.7 ± 13.7 anos) e para positividade concomitante de anti-CCP/ FR essa variou entre 25 e 46 anos (39.7 ± 9.3 anos; Gráfico 8). Uma diminuição significativa na média de idade dos familiares em relação aos pacientes foi observada tanto para anti-CCP positivos ($p=0.0081$), como para FR ($p<0.001$) e CCP/FR concomitantes ($p=0.0125$).

GRÁFICO 6 – POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR EM
PACIENTES COM AR DE ACORDO COM O SEXO



NOTA: Sexo feminino vs. Sexo masculino: $p=NS$ para todos os grupos. Teste de Fisher

GRÁFICO 7 – POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR EM
FAMILIARES DE ACORDO COM O SEXO

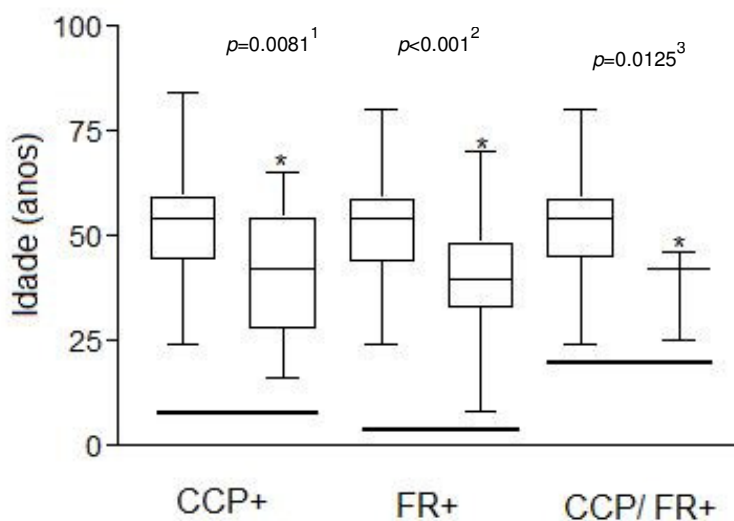


NOTA: ¹ Anti-CCP+ Feminino vs. Masculino: NS

² FR+ Feminino vs. Masculino: $p=0.067$

³ Anti-CCP/FR+ Feminino vs. Masculino: $p=0.082$
Teste de Fisher

GRÁFICO 8 – POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E/ OU FR
DE ACORDO COM A MÉDIA DE IDADE



NOTA: * = Familiares

¹ Pacientes anti-CCP+ vs. Familiares anti-CCP+: $p=0.0081$

² Pacientes FR+ vs. Familiares FR+: $p<0.001$

³ Pacientes anti-CCP/ FR+ vs. Familiares anti-CCP/FR+:
 $p=0.0125$

5.1.3 Positividade para anti-CCP em pacientes com AR e familiares em relação ao grau de parentesco e tabagismo

A Tabela 4 sumariza a influência dos dados demográficos e sorológicos recém abordados, assim como do tabagismo, na positividade para anti-CCP e FR nos familiares de primeiro e segundo grau dos pacientes com AR.

Dentre os 188 familiares de primeiro grau, 5.3% (10/188) foram positivos para anti-CCP, 8% (15/188) para FR e 2.6% (5/188) para CCP/ FR concomitantes. Tais dados não diferiram significativamente daqueles obtidos para os familiares de segundo grau (8.3%, 1/12; 8.3%, 1/12 e 0%, 0/12, respectivamente).

Em relação ao tabagismo, dentre os 57 familiares fumantes (28.5%; 57/200), 5.3% (3/57) apresentaram positividade para anti-CCP e FR, e 1.8% (1/57) foram positivos para ambos, não apresentando diferença significativa entre os mesmos (Tabela 4; Gráfico 9).

TABELA 4 – DADOS DEMOGRÁFICOS E SOROLÓGICOS DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR

	Familiares % (N)	Anti-CCP + % (N)	FR + % (N)	Anti-CCP/ FR+ % (N)
Idade média (faixa etária)	36.7 (7 – 91)	39.4 (16 – 65)	39.7 (8 – 70)	39.7 (25 – 46)
Feminino	61 (122/ 200)	7.4 (9/ 122) ¹	10.6 (13/ 122) ²	4.1 (5/ 122) ³
Masculino	39 (78/ 200)	2.6 (2/ 78)	3.8 (3/ 78)	0 (0/ 78)
Familiar de 1º grau	94 (188/ 200)	5.3 (10/ 188) ¹	8 (15/ 188) ¹	2.6 (5/ 188) ¹
Familiar de 2º grau	6 (12/ 200)	8.3 (1/ 12)	8.3 (1/ 12)	0 (0/ 12) ¹
Fumantes	28.5 (57/ 200)	5.3 (3/ 57) ¹	5.3 (3/ 57) ¹	1.8 (1/ 57) ¹

NOTA: ¹ Feminino vs. Masculino; Familiar de 1º grau vs. Familiar de 2º grau; Fumantes vs. Não-fumantes: $p=NS$

² FR+ Feminino vs. Masculino: $p = 0.067$

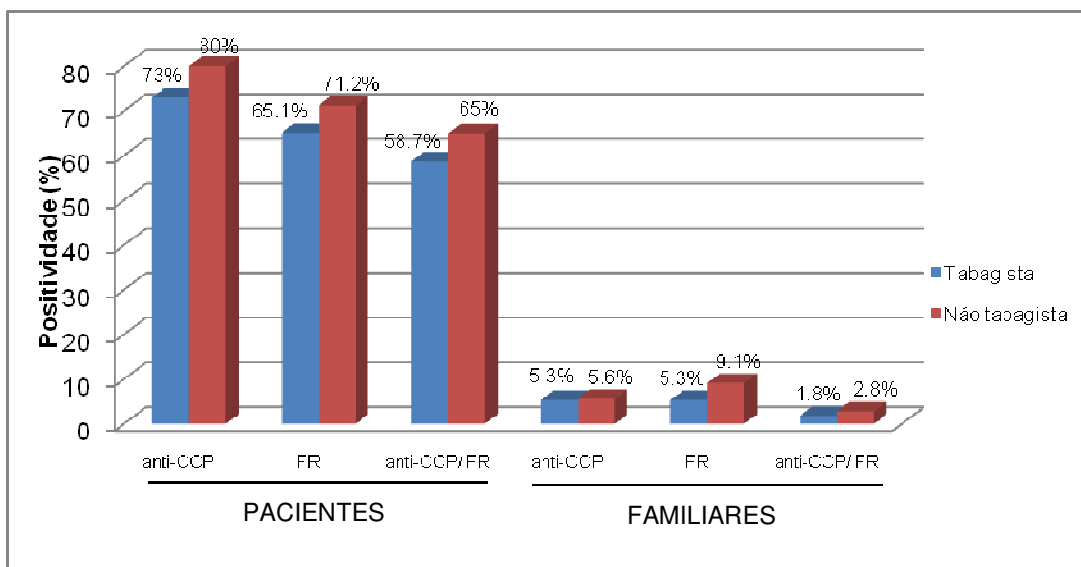
³ Anti-CCP/ FR+ Feminino vs. Masculino: $p = 0.082$
Teste de Fisher

Por sua vez, dentre os pacientes com AR tabagistas (44%; 63/143), 73% (46/63) foram anti-CCP positivos, 65.1% (41/63) FR positivos e 58.7% (37/63) apresentaram anti-CCP/FR concomitantes. A análise da frequência desses anticorpos em fumantes e não fumantes não evidenciou diferença significativa (Gráfico 9).

5.1.4 Positividade para anti-CCP em pacientes com AR e familiares em relação aos títulos de anticorpos

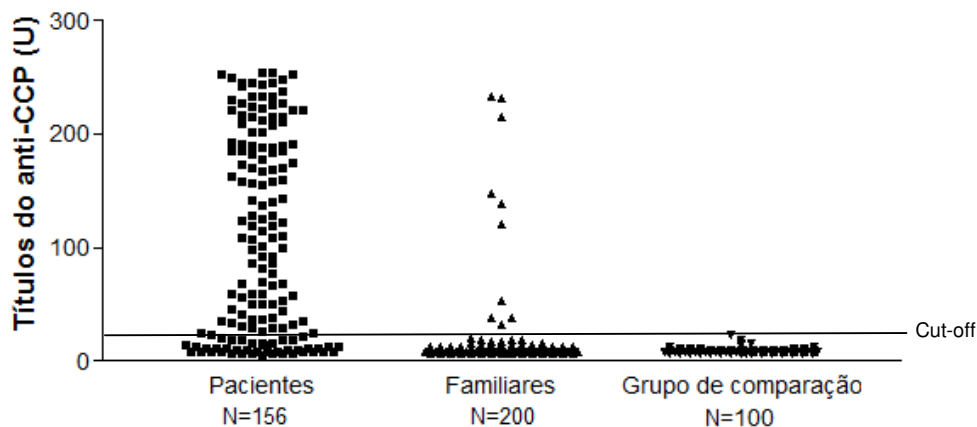
A distribuição dos anticorpos anti-CCP nos indivíduos em estudo pode ser observada no Gráfico 10.

GRÁFICO 9 - POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR DE ACORDO COM O TABAGISMO



NOTA: Familiares tabagistas vs. familiares não tabagistas (CCP, FR, CCP/FR): $p=NS$
 Pacientes tabagistas vs. pacientes não tabagistas (CCP, FR, CCP/FR): $p=NS$
 Teste Qui-quadrado com correção de Yates e Fisher

GRÁFICO 10 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTI-CCP NOS GRUPOS EM ESTUDO



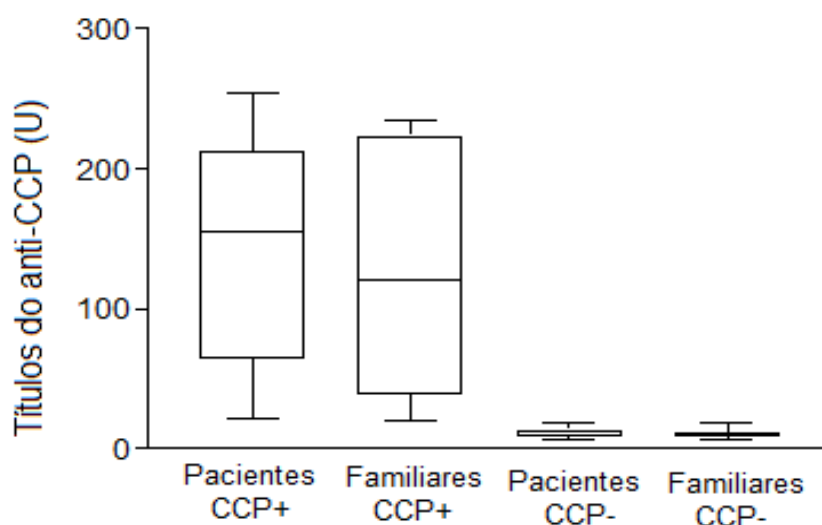
NOTA: Cut-off = 20U

A concentração do anti-CCP nos pacientes positivos (117/ 156) apresentou variação de 21 a 254U (média $140U \pm 75.7$) e nos familiares (11/ 200) de 20 a 234U (média 115.6 ± 84.2), e na única amostra positiva no grupo de comparação observou-se No grupo de comparação a única amostra positiva caracterizou 24U. Por sua vez, nos pacientes negativos para anti-CCP a variação foi de 6 a 19U

(média = 10.9U) e nos familiares de 7 a 19U (média = 9.9U). Não foram observadas diferenças significantes na média das concentrações de anti-CCP positivo ($p=0.3078$) e anti-CCP negativo ($p=0.5947$) entre pacientes e familiares (Gráfico 11).

Do total de 117 pacientes positivos para, 76.9% (90/ 117) apresentaram reação fortemente positiva, 8.5% (10/ 117) moderadas e 14.5% (17/ 117) fracamente positivas (Gráfico 12a).

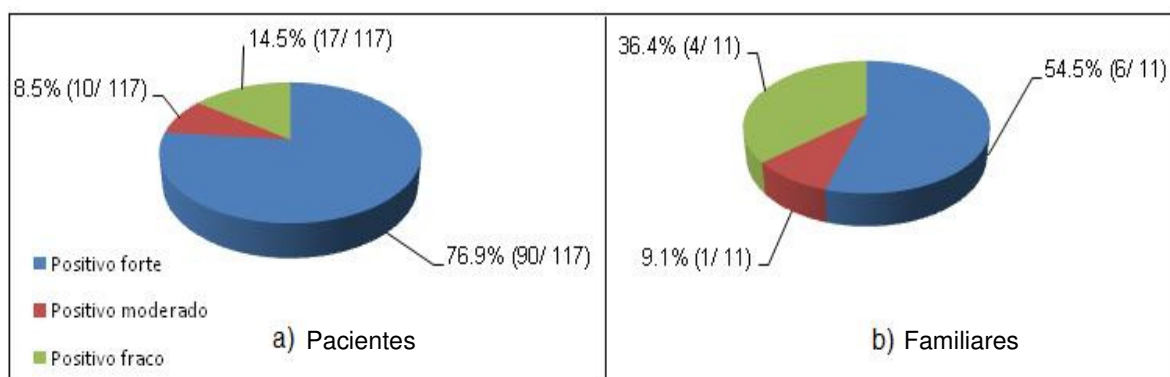
GRÁFICO 11 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTI-CCP EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES



NOTA: Média anti-CCP+ Pacientes vs. Familiares: $p=NS$
 Média anti-CCP- Pacientes vs. Familiares: $p=NS$
 Teste Mann-Whitney

Dentre os 11 familiares anti-CCP positivos, 6 (54.5%) apresentaram forte positividade, 1 familiar (9.1%) apresentou título moderado e 4 (36.4%) apresentaram títulos fracos. Não houve diferença significativa na intensidade dos títulos de anti-CCP entre pacientes com AR e familiares (Gráfico 12b).

GRÁFICO 12 – POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES DE ACORDO COM A INTENSIDADE DA REAÇÃO



NOTA: Interpretação: <20U = negativo; 20-39U = positivo fraco; 40-59U = positivo moderado; ≥60U = positivo forte

Pacientes vs. Familiares (forte, moderado e fraco): $p = NS$

Teste Qui-quadrado com correção de Yates e Fisher

5.1.5 Positividade para FR em pacientes com AR e familiares em relação aos títulos

A variação de títulos para FR nos pacientes com AR foi de 30 a 7680UI/ml (mediana=120UI/ml) e nos familiares de 30 a 1280UI/ml (mediana=30UI/ml; $p < 0.0001$; Mann-Whitney).

5.2 ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO AOS ANTICORPOS ANTI-CCP E FR

Na Tabela 5 tem-se o resumo dos dados clínicos, demográficos e sorológicos dos pacientes com AR. A análise dos prontuários e entrevistas com os pacientes permitiu estabelecer a distribuição de freqüências de dados de acordo com o sexo, idade de início e duração da doença, classe funcional, manifestações extra-articulares e tabagismo, conforme caracterizado em materiais e métodos (item 4.2.1, Tabelas 1 e 2). Tais dados, avaliados em relação à positividade para anti-CCP, FR e anti-CCP/FR concomitantes, mostraram diferença significativa de freqüência em relação ao sexo feminino ($p=0.0263$), e tendência à significância nas idades de início da doença na faixa de 31 a 60 anos ($p=0.0811$) e >60 anos ($p=0.0907$; Tabela 5).

TABELA 5 – DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM AR

VARIÁVEIS	Pacientes % (N)	Anti-CCP + % (N)	FR + % (N)	Anti-CCP/ FR + % (N)	p
Idade média	51.3±12.2	52.6±12.4	51.5±11.7	52.1±11.8	0.8186**
Feminino	87.2 (136/ 156)	74.3 (101/ 136)	66.2 (90/ 136)	58.8 (80/ 136)	0.0263*
Masculino	12.8 (20/ 156)	80 (16/ 20)	80 (16/ 20)	75 (15/ 20)	0.9065*
Tabagismo	44 (63/ 143)	73 (46/ 63)	65.1 (41/63)	58.7 (37/ 63)	0.2392*
IID (média)	42.4±13.2	43.2±13.3	42.5±12	42.6±12.3	0.9753**
18 a 30 anos	25.6 (40/ 156)	70 (28/ 40)	62.5 (25/ 40)	60 (24/ 40)	0.6243*
31 a 60 anos	66.7 (104/ 156)	75.9 (79/ 104)	73.1 (76/ 104)	62.5 (65/ 104)	0.0811*
> 60 anos	7.7 (12/ 156)	83.3 (10/ 12)	41.7 (5/ 12)	50 (6/ 12)	0.0907*
TDD (média)	8.9 anos	9.4 anos	9 anos	9.6 anos	0.8909**
6 a 24 mês	23.1 (36/ 156)	75 (27/ 36)	69.4 (25/ 36)	61.1 (22/ 36)	0.4424*
>2 a 10 anos	46.2 (72/ 156)	70.8 (51/ 72)	66.7 (48/ 72)	55.6 (40/ 72)	0.1412*
> 10 anos	30.8 (48/ 156)	81.2 (39/ 48)	68.8 (33/ 48)	68.8 (33/ 48)	0.2820*
Classe					
Funcional					
Classe I	48.1 (75/ 156)	70.7 (53/ 75)	62.7 (47/ 75)	56 (42/ 75)	0.1760*
Classe II	36.5 (57/ 156)	77.2 (44/ 57)	70.2 (40/ 57)	61.4 (35/ 57)	0.1853*
Classe III	12.2 (19/ 156)	78.9 (15/ 19)	78.9 (15/ 19)	73.7 (14/ 19)	0.9052*
Classe IV	3.2 (5/ 156)	100 (5/ 5)	80 (4/ 5)	80 (4/ 5)	0.5616*
Manifestações					
E-A					
Nódulos	9 (14/ 156)	78.6 (11/ 14)	64.3 (9/ 14)	57.1 (8/ 14)	0.4724*
Sjögren	30 (43/ 143)	90.7 (39/ 43)	79 (34/ 43)	74.4(32/ 43)	0.1358*
Tireoidite	10.9 (17/ 156)	82.4 (14/ 17)	82.4 (14/ 17)	76.5 (13/ 17)	0.9569*

NOTA: * Qui-quadrado;

** Kruskal-Wallis;

IID = início da doença;

E-A = extra-articulares

TDD = tempo de duração da doença

A análise multivariada dos dados permitiu caracterizar diversas correlações estatisticamente significativas entre as variáveis em análise, embora fracas ($r=0.3034$ a 0.2189 ; $p=0.005$ a 0.041), conforme detalhado nos Apêndices 6, 7 e 8. Destacam-se entre essas o sexo e tabagismo, sexo e nódulos reumatóides, classe funcional e tempo de duração de doença, idade de início da doença e tireoidite autoimune, bem como nódulos reumatóides e síndrome de Sjögren. Os Gráficos 13, 14 e 15 ilustram essas informações e a relação das variáveis entre si, tendo como condição de inclusão a positividade para anti-CCP ($\geq 20U$), FR (≥ 30 UI/ml) e anti-CCP/FR concomitantes ($\geq 20U/ \geq 30UI/ml$), respectivamente. A regressão logística e cálculos de *odds ratio*, através da análise das proporções, mostrou, para essas condições de inclusão, relações estatisticamente válidas entre as variáveis, isto é, com $OR>1$ e 95%IC que não contém a unidade. A Tabela 6 resume os resultados significantes dessa análise, que se restringiram ao anti-CCP positivo ($\geq 20U$) com as variáveis sexo, tabagismo e presença de nódulos reumatóides. As demais análises nessa condição não forneceram *OR/IC* estatisticamente aceitos.

TABELA 6 – REGRESSÃO LOGÍSTICA PARA ANTI-CCP $\geq 20U$
COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO

VARIÁVEIS	OR	95% IC
ANTI-CCP $\geq 20U$ vs. SEXO	19.8	19.61 a 19.96
ANTI-CCP $\geq 20U$ vs. TABAGISMO	2.7	2.36 a 3.03
SEXO♀ TABAGISTA CCP+ vs. ♂ TABAGISTA CCP+	7.7	7.25 a 8.06
ANTI-CCP $\geq 20U$ vs. NÓDULOS	5.15	2.06 a 8.24

NOTA: OR = *odds ratio*;

IC = intervalo de confiança de 95%

GRÁFICO 13 – PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM CCP \geq 20U COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO

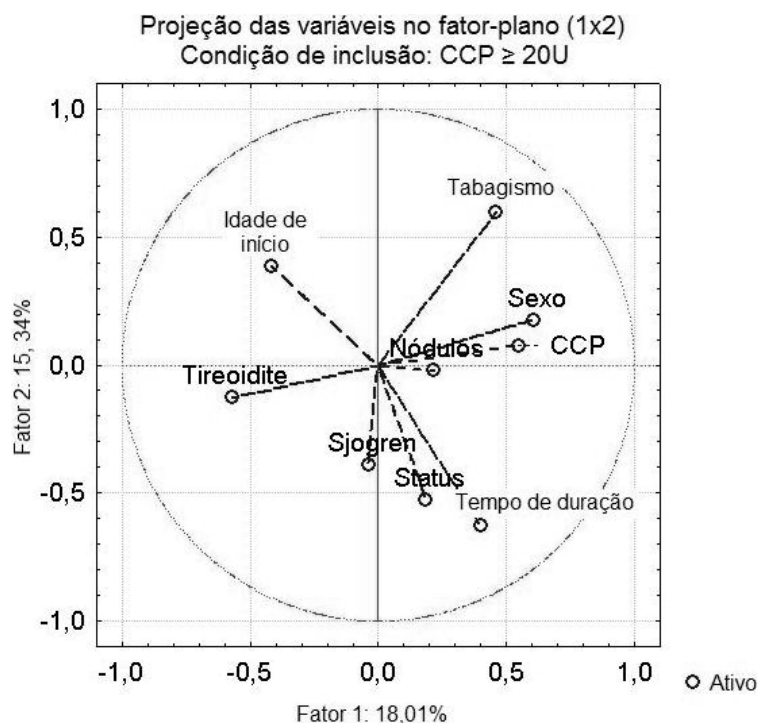
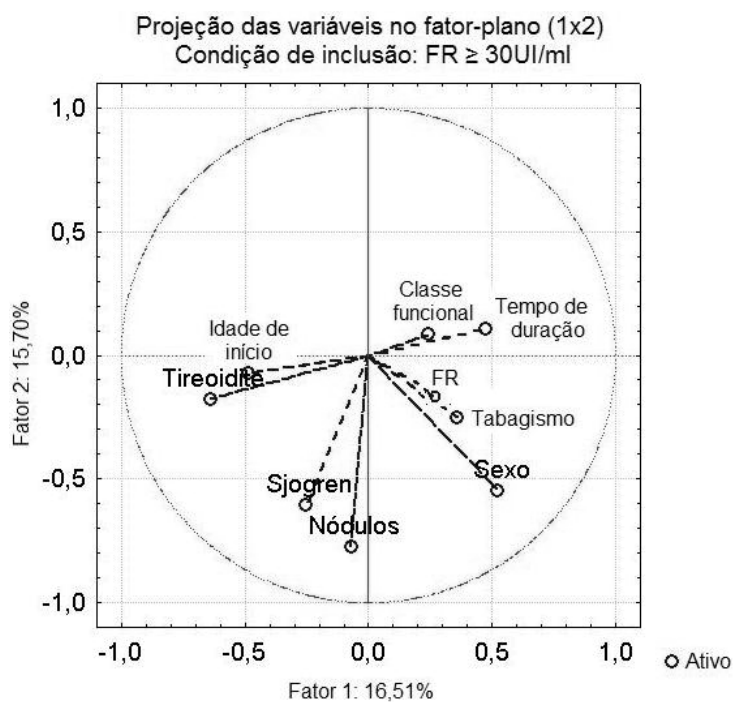


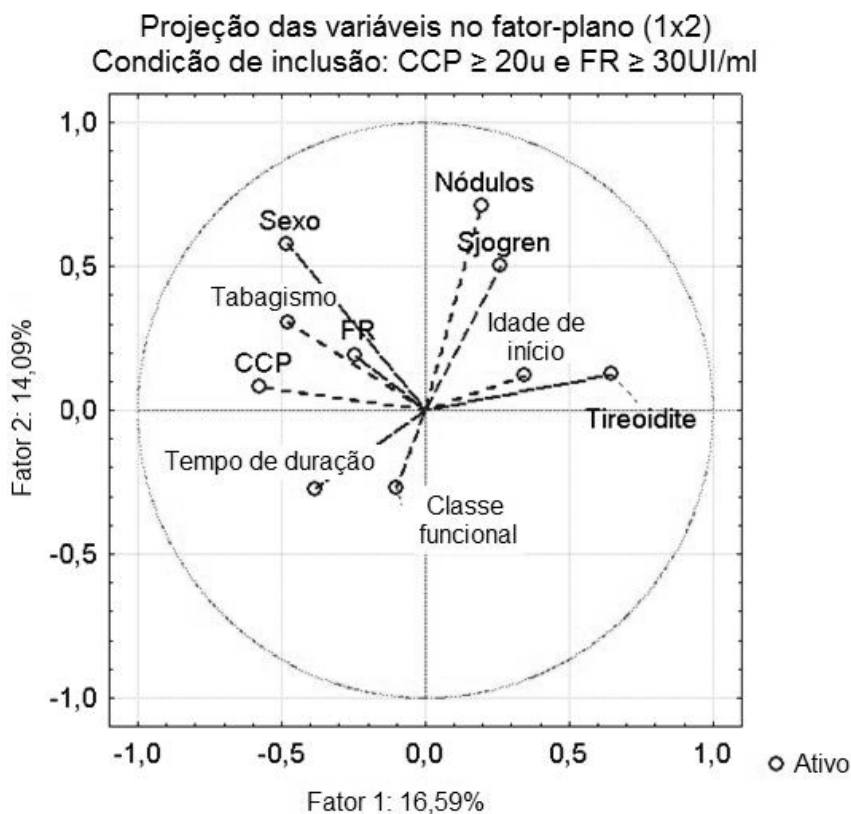
GRÁFICO 14 – PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM FR \geq 30UI/ml COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO



Análise tendo como condição de inclusão FR ($\geq 30\text{UI/ml}$) não mostrou relação significativa com as variáveis ($OR > 1/ 95\%IC$) e anti-CCP/ FR concomitantes ($\geq 20\text{U}/ \geq 30\text{UI/ml}$), na qual os riscos caíram para zero, não sendo possível a análise, possivelmente por diluição da amostragem.

O Gráfico 15 (CCP/ FR concomitantes) permitiu visualizar que o anti-CCP sofreu mais influência das outras variáveis em relação ao FR, corroborando os resultados recém colocados. A análise multivariada não caracterizou relação forte entre os títulos do anti-CCP e FR. Uma análise de co-variância realizada com CCP e FR como variáveis concomitantes, a fim de aumentar a precisão das avaliações, confirmou esse fato, enquanto a correlação de Spearman demonstrou a proporção e significância dessa relação ($r=0.43$; $p<0.0001$).

GRÁFICO 15 – PROJEÇÃO DAS VARIÁVEIS COM CCP $\geq 20\text{U}$ E
FR $\geq 30\text{UI/ml}$ COMO CONDIÇÃO DE INCLUSÃO



5.3 ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO AOS ANTICORPOS ANTI-CCP E FR

Dentre os 200 familiares de pacientes com AR, 11 apresentaram positividade para anti-CCP (5,5%), diferindo significativamente do grupo de comparação (1%; $p=0.050$), enquanto 16 foram positivos para FR (8%; $p=NS$; Gráfico 4).

Na Tabela 7 têm-se os dados clínicos, sorológicos e demográficos de todos os familiares anti-CCP positivos. Cinco desses apresentam positividade concomitante para FR. Após a re-avaliação clínica desses 11 familiares, ficou estabelecido, de acordo com os critérios do ACR, o diagnóstico de AR em dois familiares do sexo feminino, ambos positivos para anti-CCP/FR. Um desses apresentou FAN positivo (título 1:160; padrão de fluorescência pontilhado fino denso).

Até o momento, dentre os 11 familiares anti-CCP positivos, somente três não relataram queixas articulares na ocasião da entrevista (dois homens e uma mulher). Nenhum dos três apresentou positividade para FR, e aquele que mostrou reação mais intensa para anti-CCP (121U) também foi reativo para anti-CGP (título 1:160).

Dos 11 familiares anti-CCP positivos, 81.8% (9/ 11) eram do sexo feminino e 18.2% (2/ 11) do sexo masculino, sendo 10 (90.9%) familiares de primeiro grau e 1 (9.1%) de segundo grau, entre eles um pai, três irmãos, seis filhos e um neto. Um familiar encontrava-se na faixa etária de 0-16 anos (9.1%), 9 entre 16-60 (81.8%) anos e um acima dos 60 anos (9.1%). Três familiares (27.2%) eram tabagistas (Tabela 7).

TABELA 7 - DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR ANTI-CCP POSITIVOS

Nº	Idade	Sexo	Anti-CCP (U)	FR (UI/ ml)	Tabagismo	Grau de parentesco	Dados clínicos
179	42	F	234	80	N	Filha	Desenvolveu AR ¹
67	31	F	232	30	N	Filha	Desenvolveu AR
136	46	F	215	1280	S	Irmã	Dor e edema (punhos e tornozelos)*
184	16	F	148	N	N	Neta	Dor e edema (joelhos)*
15	25	F	139	60	N	Irmã	Dor e edema (mãos)*
29	57	M	121	N	N	Pai	Nenhuma queixa ²
85	17	F	54	N	N	Filha	Dor articular (costas)
38	52	F	38	N	S	Irmã	Nenhuma queixa
89	65	F	38	N	S	Filha	Artrose (mãos)
64	37	M	33	N	N	Filho	Nenhuma queixa
42	45	F	20	30	N	Filha	Atralgia (inespecífica)

NOTA: F = feminino; M = masculino; N = negativo;

ANTI-CCP 20-39U= positivo fraco; 40-59U= positivo moderado; ≥ 60U= positivo forte

¹FAN= anticorpo anti-nuclear, título 1:160

²CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal,título 1:160

* nenhuma dessas queixas foi vista objetivamente pelo médico

Por sua vez, os familiares positivos apenas para FR (11/200) apresentaram títulos que variaram de 30 a 40UI/ml (média = 30.9UI/ml), idade média de 40.5 ±15.6 anos e 72.7% (8/11) eram mulheres. Oito desses familiares relataram queixas articulares, mas nenhum teve diagnóstico de AR confirmado até o momento (Tabela 8).

Do total de 11 familiares FR positivos, 8 (72.7%) eram do sexo feminino e 3 (27.3%) do sexo masculino. Um familiar encontrava-se na faixa etária de 0-16 anos (9.1%), nove entre 16-60 (81.8%) anos e um acima dos 60 anos (9.1%). Dois familiares eram tabagistas (18.2%) e um apresentou anti-CGP positivo (título 1:160; Tabela 8)

TABELA 8 - DADOS CLÍNICOS, SOROLÓGICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES FR POSITIVOS

Nº	Idade	Sexo	Anti-CCP (U)	FR (UI/ ml)	TBG	GP	Dados clínicos
166	49	M	13	40	N	Irmão	Dor articular (ombro e mãos)*
13	48	M	10	30	S	Filho	Dor articular (joelho e coluna)*
20	33	M	8	30	S	Filho	Nenhuma queixa
131	8	F	11	30	N	Sobrinha	Dor articular (joelho)*
129	49	F	9	30	N	Filha	Dor e edema (mão)*
130	70	F	10	30	N	Mãe	Artrose
148	34	F	7	30	N	Filha	Dor articular (dedos e punhos)*
153	51	F	8	30	N	Filha	Dor e edema (joelho) ¹
166	34	F	8	30	N	Irmã	Dor articular (joelhos, pés e punhos)*
47	37	F	11	30	N	Filha	Nenhuma queixa
62	33	F	9	30	N	Filha	Nenhuma queixa

NOTA: F= feminino;

M= masculino;

N= negativo

TBG = tabagismo;

GP = grau de parentesco

ANTI-CCP: <20U= negativo

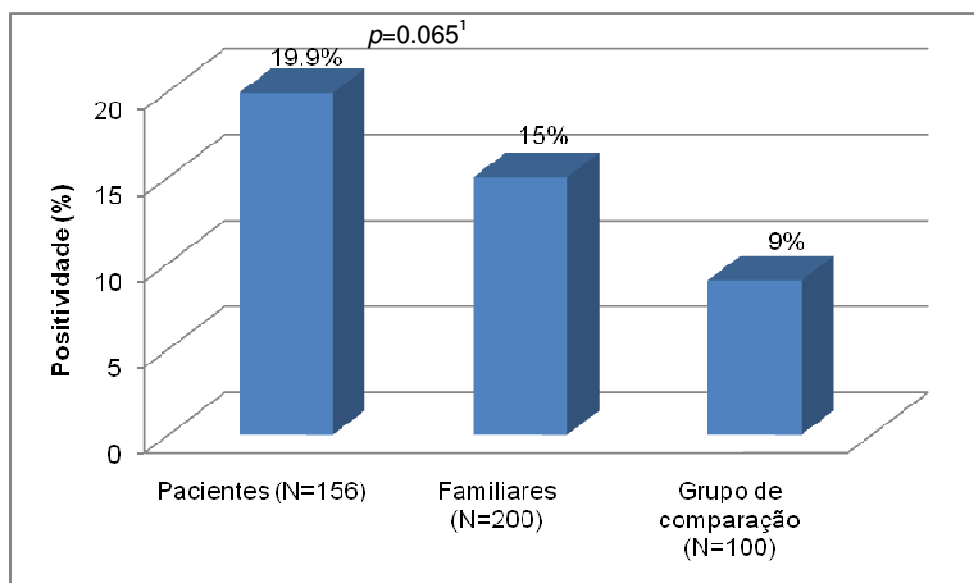
¹ CGP= anticorpo anti-célula gástrica parietal, título 1:160

*nenhuma dessas queixas foi vista objetivamente pelo médico

5.4 OUTROS AUTO-ANTICORPOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

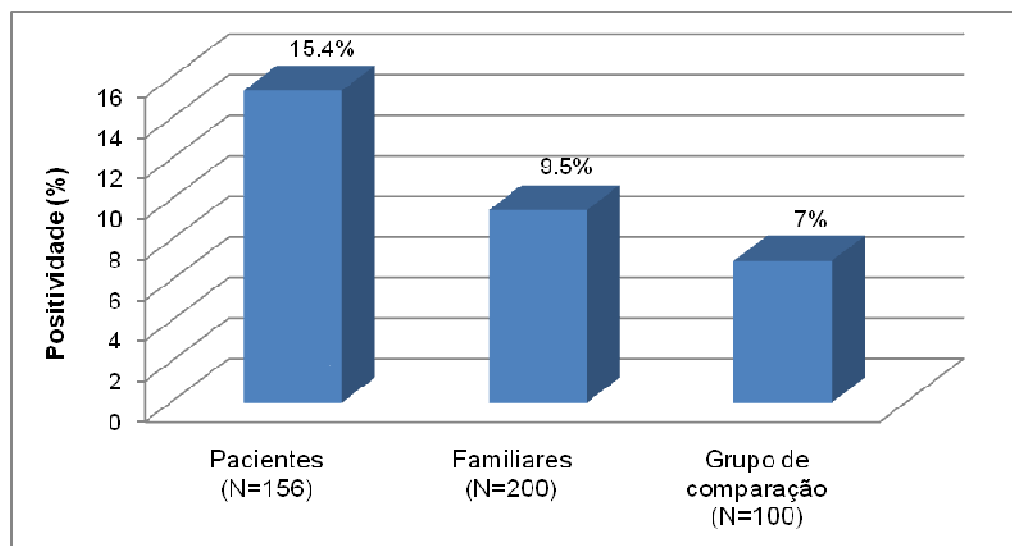
Dentre os 156 pacientes com AR, 19.9% (31/ 156) apresentaram positividade para FAN ou para pelo menos um dos demais auto-anticorpos avaliados no estudo, com diferença tendendo à significância em relação ao grupo de comparação ($p=0.065$). Em relação aos familiares, 15% (30/ 200) foram positivos para os outros auto-anticorpos, e não diferiram significativamente do grupo de comparação ($p=0.202$). A análise da frequência dos auto-anticorpos entre pacientes e familiares não mostrou significância estatística (19.9%, 31/156 vs. 15%, 30/200; $p= 0.285$; Gráfico 16). Dentre os indivíduos positivos, um paciente e um familiar apresentaram mais de um anticorpo simultaneamente. Nos Apêndices 4 e 5 estão os dados sorológicos, clínicos e demográficos dos pacientes com AR e familiares que apresentaram positividade para os demais auto-anticorpos testados (FAN e auto-anticorpos órgão-específicos).

GRÁFICO 16 – POSITIVIDADE TOTAL DE OUTROS AUTO-ANTICORPOS NOS GRUPOS EM ESTUDO



NOTA: ¹ Pacientes vs. Grupo de comparação: $p= 0.065$
 Familiares vs. Grupo de comparação: $p= NS$
 Pacientes vs. Familiares: $p= NS$
 Teste Qui-quadrado

GRÁFICO 17 – POSITIVIDADE PARA FAN NOS GRUPOS EM ESTUDO



NOTA: Pacientes vs. Grupo de comparação: $p = NS$
 Familiares vs. Grupo de comparação: $p = NS$
 Pacientes vs. Familiares: $p = NS$
 Teste Qui-quadrado com correção de Yates

5.4.1 POSITIVIDADE PARA FAN EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

A análise sorológica dos pacientes com AR revelou positividade de 15.4% (24/ 156) para FAN com tendência a significância em relação ao grupo de comparação (7%, 7/100; $p=0.065$; Gráfico 17). Dentre os pacientes positivos, 83.3% (20/ 24) eram do sexo feminino e 16.7 % (4/24) do sexo masculino. A faixa etária dos pacientes com AR positivos para FAN variou entre 32 e 80 anos (média = 53 ± 10.5 anos).

A positividade do FAN nos pacientes caracterizou uma variação de títulos de 1:80 a $> 1:1280$. Os padrões de fluorescência observados nesse grupo podem ser visualizados no Gráfico 18.

Dentre os pacientes FAN positivos, dois apresentaram reação para anti-DNA (títulos 1:10 e 1:80). Esses tinham padrão de fluorescência nuclear pontilhado fino denso e citoplasmático pontilhado fino denso, respectivamente, sexo feminino e 32 e 66 anos.

Por sua vez, dentre os 200 familiares de pacientes com AR, 9.5% (19/ 200) apresentaram resultados positivos para FAN, com variação de títulos de 1:80 a 1:160. Não houve diferença significativa entre a positividade para FAN obtida no grupo de familiares em relação aos grupos de comparação (7%, 7/100; $p=0.611$) e de pacientes (15.4%, 24/156; $p=0.127$; Gráfico 17). Dentre os familiares FAN positivos, 68.4% (13/ 19) pertenciam ao sexo feminino e 31.6% (6/ 19) ao sexo masculino, com faixa etária variando entre 11 e 91 anos (média = 39.7 ± 21 anos). Os padrões de fluorescência observados podem ser visualizados no Gráfico 19.

Nenhum familiar positivo para FAN apresentou reação para anti-DNA. Dentre os dois familiares que tiveram confirmado o diagnóstico de AR (Tabela 7), um apresentou FAN 1:160, com padrão de fluorescência nuclear pontilhado fino denso.

Dentre os 7/ 100 (7%) indivíduos positivos para FAN no grupo de comparação, 71.4% (5/ 7) eram do sexo feminino e 28.6% masculino (2/ 7), com faixa etária variando de 25 a 73 anos (média 55.6 ± 15.3 anos). Os títulos de reação variaram de 1:80 a 1:320, e os padrões de fluorescência detectados foram nuclear pontilhado fino denso (3), nuclear pontilhado grosso (2), nucleolar homogêneo(1) e citoplasmático pontilhado fino denso (1). Nenhum desses indivíduos apresentou anti-dsDNA positivo.

GRÁFICO 18 – FREQUÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA PARA FAN EM PACIENTES

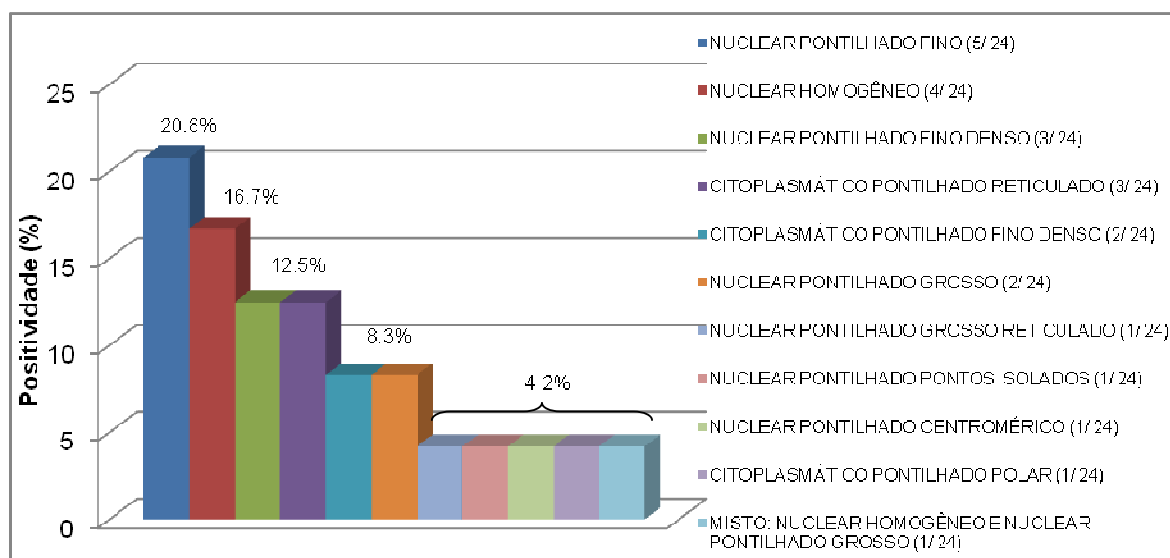
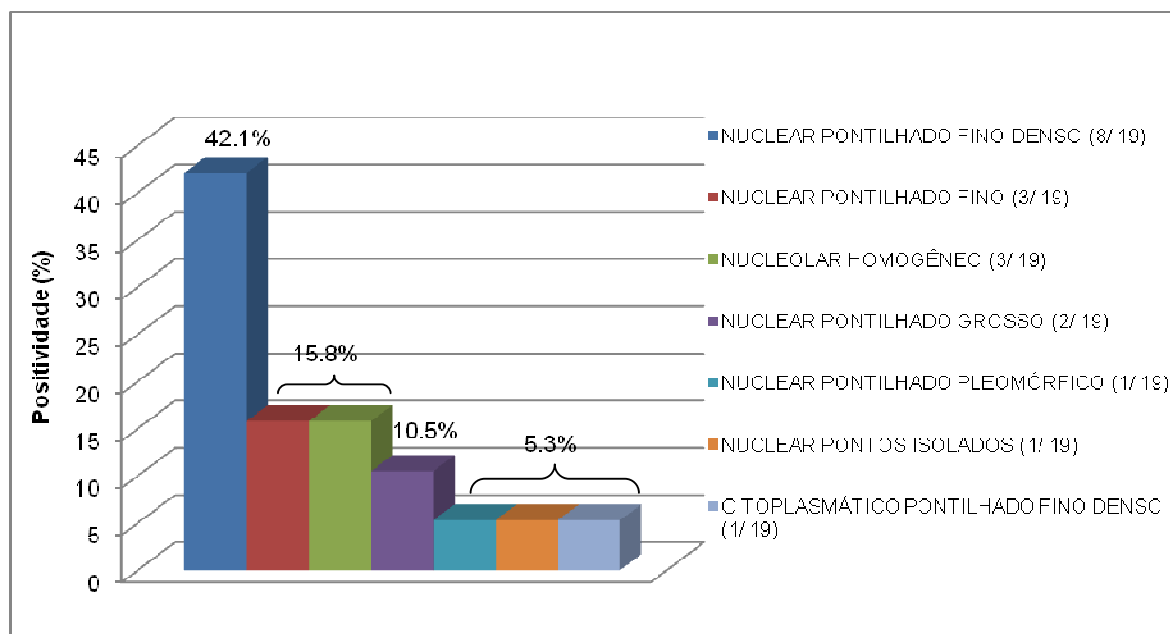


GRÁFICO 19 – FREQUÊNCIA DOS PADRÕES DE FLUORESCÊNCIA PARA FAN EM FAMILIARES



5.5 POSITIVIDADE TOTAL DOS AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

Os resultados obtidos na determinação dos auto-anticorpos órgão-específicos, nos pacientes com AR, familiares, assim como no grupo de comparação, podem ser observados no Gráfico 20. A positividade total detectada em pacientes foi de 5.1% (8/ 156), em relação a 2% (2/ 100) detectada no grupo de comparação ($p=0.324$), sendo todos pacientes do sexo feminino (42 a 63 anos). A análise sorológica dos 200 familiares revelou positividade de 6% (12/ 200) para pelo menos um dos auto-anticorpos órgão-específicos, diferindo significativamente do grupo de comparação (2%, 2/ 100; $p=0.036$). Do total de familiares positivos para os auto-anticorpos órgão-específicos, 50% (6/ 12) eram do sexo feminino e 50% (6/ 12) masculino, com faixa etária variando entre 20 e 65 anos. A comparação entre pacientes (5.1%) e familiares (6%) não mostrou diferença significativa.

5.5.1 Positividade dos auto-anticorpos AML, AMA, anti-LKM, anti-CGP e EmA-IgA em pacientes com AR e familiares

No Gráfico 21 tem-se a distribuição dos auto-anticorpos AML, AMA, anti-LKM, anti-CGP e EmA-IgA em pacientes com AR, familiares e grupo de comparação.

Dentre os 156 pacientes, cinco apresentaram positividade para anti-CGP (3.2%), com títulos de 1:80 até 1:320. Dois pacientes foram positivos para AMA, (1.3%; títulos 1:20 e 1:80) e um para AML (0.6%; título 1:40). Todas as amostras testadas foram negativas para anti-LKM e EmA- IgA.

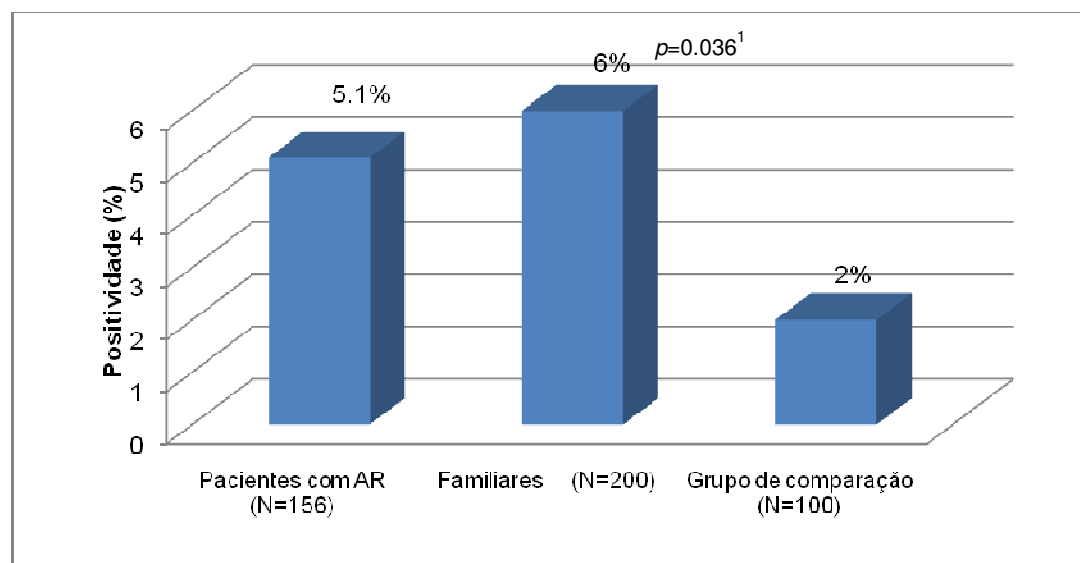
Dentre os familiares positivos para os auto-anticorpos órgão-específicos, 3.5% (7/ 200) foram positivos para anti-CGP, com títulos variando entre 1:80 e 1:320, 1% (2/ 200) para o AMA (títulos 1:40 e 1:80); 1% (2/ 200) para EmA-IgA (títulos 1:40 e 1:160) e 0.5% (1/ 200) para AML (título=1:160; Gráfico 21).

Um familiar positivo para anti-CGP (título 1:160, sexo masculino, 57 anos) apresentou reação para anti-CCP (121U; Tabela 7), enquanto outro com anti-CGP (título 1:160) foi positivo para FR (30 UI/ml, sexo feminino, 51 anos; Tabela 8).

No grupo de comparação, a positividade foi de 1% para anti-CGP e para AML (título 1:80 e 1:40, respectivamente), sendo os demais anticorpos negativos. Não

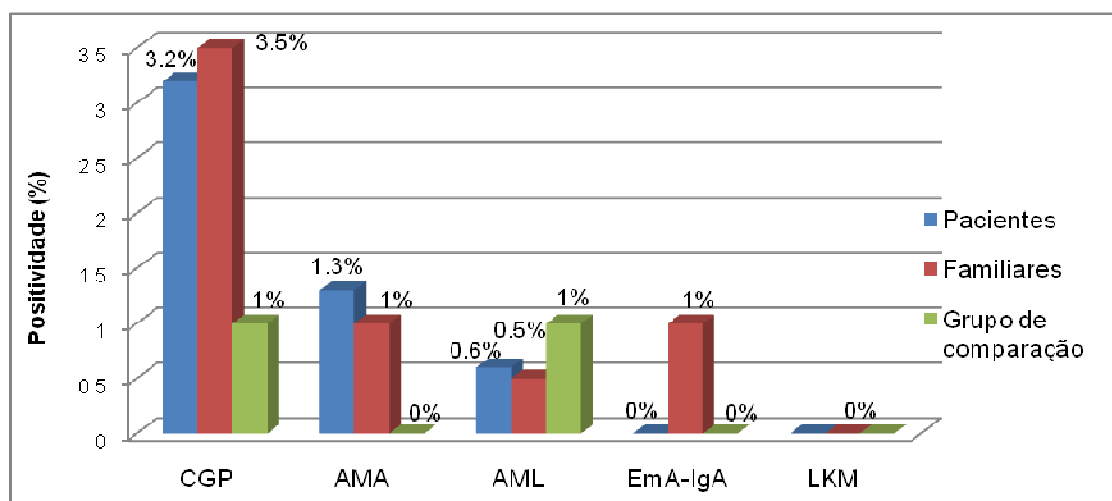
houve diferença significativa na positividade detectada entre os três grupos em estudo.

GRÁFICO 20 – AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS NOS GRUPOS EM ESTUDO



NOTA: ¹ Familiares vs. Grupo de comparação: $p=0.036$
 Pacientes vs. Grupo de comparação: $p=NS$
 Pacientes vs Familiares: $p=NS$.
 Teste de Fisher

GRÁFICO 21 – POSITIVIDADE PARA AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS NOS GRUPOS EM ESTUDO



NOTA: $p=NS$ para todos os grupos
 Teste de Fisher

5.6 CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA FAN

Até o momento, dentre os 24 pacientes com AR que apresentaram positividade para FAN (15.4%), nenhum preenche os critérios diagnósticos para LES do ACR, inclusive os dois pacientes que apresentaram positividade para anti-DNA (títulos=1:10 e 1:80).

De forma semelhante, dos 19 familiares positivos para FAN (9.5%), nenhum apresentou critérios diagnósticos para LES. No Quadro 6 encontram-se as queixas mais comuns apresentadas por esses familiares, levantadas através das entrevistas e questionários aos quais foram submetidos.

QUADRO 6 – QUEIXAS APRESENTADAS PELOS FAMILIARES FAN POSITIVOS

Queixa	% (N)
Problemas gastrointestinais	52.6 (10/ 19)
Dor articular	47.4 (9/ 19)
Abortos	15.8 (8/19)
Anemia	15.8 (3/ 19)
Problemas hepáticos	10.5 (2/ 19)
Problemas renais	10.5 (2/ 19)
Alergias	10.5 (2/ 19)

5.7 CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES E FAMILIARES EM RELAÇÃO AOS OUTROS AUTO-ANTICORPOS

Os 8 pacientes (5.1%) com positividade para auto-anticorpos órgão-específicos tiveram seus prontuários revistos e/ou foram re-avaliados clinicamente. Dentre os 5 pacientes positivos para anti-CGP (3.2%; títulos 1:80 a 1:320), nenhum apresentou anemia, bem como nenhum dos dois pacientes positivos para AMA

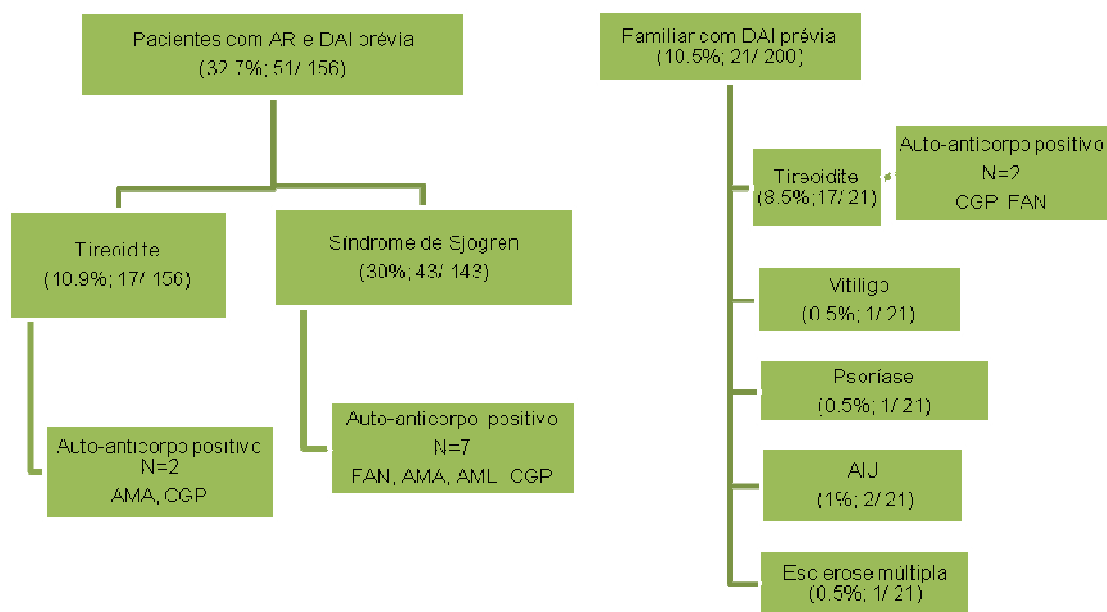
apresentou disfunção hepática. Os testes hepáticos e pancreáticos do paciente AML positivo encontram-se em andamento.

Por sua vez, dentre os 12 familiares (6%) com presença de auto-anticorpos órgão-específicos, as queixas mais freqüentes naqueles positivos para anti-CGP (N=7) foram dor abdominal, sonolência exagerada e anemia. Já o familiar AML positivo apresentava histórico de icterícia e anemia. Os familiares EmA-IgA positivos relataram perda de peso, dor abdominal, constipação, anemia e episódios de alergia cutânea. Ambos foram encaminhados ao Serviço de Gastroenterologia do Hospital Evangélico para investigação de doença celíaca. Os testes hepáticos do familiar AMA positivo encontram-se em andamento.

5.8 OUTRAS DAI PREVIAMENTE DIAGNOSTICADAS NOS PACIENTES COM AR E FAMILIARES

Dentre os pacientes com AR, 10.9% (17/ 156) apresentavam diagnóstico de tireoidite autoimune prévio ao estudo, sendo que dois desses apresentaram positividade para um dos auto-anticorpos órgão-específicos testados no estudo. Em relação à síndrome de Sjögren, 30% dos pacientes com AR (43/ 143) possuíam diagnóstico prévio, sendo que sete desses pacientes apresentaram positividade para FAN e/ ou auto-anticorpo órgão-específico. Por sua vez, dentre os familiares de pacientes com AR estudados, 21 (10.5%) possuíam diagnóstico prévio de DAI, incluindo tireoidite autoimune (17), vitiligo (1), AIJ (2), psoríase (1) e esclerose múltipla (1). Um familiar com tireoidite auto-imune apresentou diagnóstico concomitante de vitiligo. Um familiar com diagnóstico prévio de DAI apresentou positividade para anti-CGP e outro foi positivo para FAN (Fluxograma 2).

FLUXOGRAMA 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS DAI PRÉVIAS EM PACIENTES E FAMILIARES



6 DISCUSSÃO

A fisiopatologia da AR ainda não está completamente esclarecida, sendo seu curso muito variável e de difícil prognóstico. Porém, sabe-se que a adoção de estratégias terapêuticas agressivas no início da doença contribui de forma significativa para o melhor prognóstico. Assim, o desenvolvimento de ferramentas diagnósticas de elevada sensibilidade e especificidade representam um grande avanço para melhor manejo da AR e conseqüente melhora na qualidade de vida do paciente.

Atualmente, embora o FR seja o único teste sorológico incluído entre os critérios de classificação do ACR para AR, os anticorpos anti-CCP vêm sendo cada vez mais utilizados na prática clínica, devido sua elevada especificidade. Em adição, o acentuado valor preditivo do anti-CCP também proporcionou grande avanço na investigação de populações ditas de risco para o desenvolvimento da doença, sendo que positividade concomitante para FR e anti-CCP possui valor preditivo de aproximadamente 100% (LEE, BECK, HALL, 2008). Além disso, diversas pesquisas têm demonstrado forte relação entre sorologia positiva para anti-CCP e formas mais agressivas da AR (NISHIMURA et al., 2007).

Inúmeros estudos têm evidenciado ainda relação entre diversas DAI, as quais podem co-existir em um paciente ou atingir vários indivíduos em uma mesma família (ALARCO´N-SEGOVIA et al., 2005; ANAYA et al., 2007; HEMMINKI et al., 2009). Tal fato pode ser explicado pela existência de genes de suscetibilidade em comum entre essas doenças, o que faz dos familiares de pacientes população de risco para desenvolvimento de DAI. O desenvolvimento de testes sorológicos com elevado valor preditivo tem permitido a triagem de populações consideradas de risco, o que é especialmente importante quando a doença pode ser prevenida ou quando suas morbidades podem ser evitadas.

Por serem as DAI resultantes da interação entre fatores genéticos, ambientais, hormonais e imunológicos, estudos população-específicos são importantes para a caracterização de uma dada população. Considerando a inexistência de estudos dessa natureza na população do sul do Brasil, e por esta apresentar características étnicas peculiares, o presente estudo constitui uma investigação de caráter pioneiro, tanto pela ampla análise sorológica realizada nos

pacientes com AR quanto pela investigação clínico-laboratorial efetuada nos respectivos familiares.

6.1 ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

Está demonstrada maior predisposição ao desenvolvimento de DAI em familiares de paciente com AR, bem como forte associação entre positividade para anti-CCP e FR e o curso da AR (MOSCA et al., 2008; MICHOU et al., 2008b).

Nesse contexto, o presente estudo caracterizou diferença estatisticamente significativa em relação à positividade para anti-CCP em pacientes com AR (75%), familiares (5.5%) e grupo de comparação (1%). Resultados similares foram encontrados tanto na população tailandesa, como em populações indígenas da América do Norte, porém até o momento são inexistentes estudos referentes à positividade para anti-CCP em familiares de pacientes com AR da América do Sul (VANICHAPUNTU et al. 2009; EL-GABALAWY et al. 2009). No Brasil, SILVA et al. (2006), em estudos na população do Maranhão, obtiveram dados similares de positividade para anti-CCP em pacientes com AR (68%) e indivíduos sadios (1.6%), apesar do menor número de amostras analisadas (100 e 63 respectivamente).

A presença de alterações sorológicas pode ser detectada anos antes do aparecimento das manifestações clínicas da AR e, segundo NIELEN et al. (2004), familiares de pacientes com AR com sorologia positiva para anti-CCP possuem 69.4% de risco para desenvolvimento da doença em 5 anos. Tal observação torna a detecção de auto-anticorpos útil no diagnóstico precoce da AR em populações consideradas de risco e ressalta a importância de estudos envolvendo esses indivíduos. De acordo com ROJAS-SERRANO et al. (2009), a suspeita clínica juntamente com sorologia positiva para anti-CCP estão fortemente associadas ao diagnóstico da AR, sendo que o conjunto dessas duas ferramentas diagnósticas proporciona especificidade de 100%, sensibilidade de 53% e valor preditivo positivo de 98% para o diagnóstico da AR. Considerando os aspectos recém colocados, a positividade total de 5.5% para anti-CCP detectada entre os 200 familiares de pacientes com AR avaliados nesse estudo se mostrou significativamente superior em relação ao grupo de comparação ($p=0.05$; Gráfico 4), e conduziu à avaliação

clínica desses familiares, conforme será abordado no item 6.4. A caracterização do poder da amostra superior a 95% no estudo (www.lee.dante.br/pesquisa.html) corrobora o valor desses achados.

A frequência do FR nos familiares (8%) não apresentou diferença significativa do grupo de comparação (6%), e não foram encontrados relatos que permitissem avaliar tais dados em relação a grupos de familiares de outras populações. Por sua vez, a positividade detectada para FR no grupo de pacientes (67.9%) está de acordo com dados descritos na literatura (LINDQVIST et al., 2005; FATHI et al., 2008), embora SILVA et al. (2006a) tenham obtido frequência superior para FR (91%) em 100 pacientes com AR no Maranhão e MOTA et al. (2009) demonstrou-a em apenas 50% em pacientes de Brasília.

A positividade concomitante para anti-CCP/ FR tem sido considerada um fator de pior prognóstico para o curso da AR, bem como a associação dessas duas ferramentas diagnósticas elevam a acurácia do diagnóstico, sendo que a positividade concomitante para ambos os auto-anticorpos eleva para 100% o risco diagnóstico para AR (LEE, BECK, HALL, 2008). No presente estudo, a positividade concomitante para anti-CCP/ FR detectada em pacientes com AR foi de 60.9% (95/156) e no total de familiares foi de 2.5% (5/200; Gráfico 5). Em relação à concomitância do anti-CCP/ FR em pacientes, o resultado do presente estudo se aproxima ao encontrado por LINDQVIST et al. (2005), porém foi inferior ao descrito por FATHI et al. (2008) o que possivelmente se deve a diferença amostral entre os dois estudos. Em estudo recente, GUPTA et al. (2009) demonstraram que pacientes com anti-CCP/ FR concomitantes tinham maiores chances de desenvolver AR erosiva do que aqueles positivos apenas para FR. Considerando especificamente dentre os familiares que apresentaram positividade para o anti-CCP e/ou RF (N=22), a concomitância detectada em nosso estudo foi de 22.7% (5/22), sendo que dois desses familiares já preencheram os critérios diagnóstico do ACR para AR. Tais dados corroboram o papel desses anticorpos nas avaliações de risco familiar em diferentes populações, e constituem uma informação pioneira na população brasileira.

A demonstração da positividade de 1% para anti-CCP no grupo de indivíduos sadios do presente estudo (N=100) poderá ser de real contribuição para outras investigações em AR no sul do Brasil, considerando a ausência de relatos similares

nessa região. SILVA et al. (2006a) detectaram anti-CCP em 1.6% e FR em 4.8% dos indivíduos sadios no Maranhão (N=63).

Elevada porcentagem dos pacientes e familiares apresentaram títulos fortes de anti-CCP (76.9% e 54.8% respectivamente; Gráfico 12). Apesar do grupo de pacientes apresentar positividade para anti-CCP estatisticamente maior em relação aos familiares, proporcionalmente os títulos de reação observados neste último se mostraram tão elevados quanto aos observados nos pacientes com AR, inclusive em relação às concentrações médias (Gráfico 11). O valor preditivo inerente ao título de positividade do anti-CCP é ainda uma questão controversa (PAPADOPOULOS et al., 2008; CHIBNIK et al, 2009), porém esse parece estar intimamente relacionado à presença do HLA *SE*, o qual confere elevada suscetibilidade genética ao desenvolvimento da AR (CUI et al., 2009). Segundo CHIBNIK et al., (2009), o título para anti-CCP está fortemente associado ao tempo até o aparecimento da AR, sendo que quanto maior o título, considera-se mais próximo o início da doença. Os dois familiares com diagnóstico de AR já confirmado, apresentando altos títulos de anti-CCP e concomitância de FR, corroboram esses aspectos (Tabela 7).

Por sua vez, os títulos obtidos para FR, embora não guardem relação forte com os títulos do anti-CCP ($r=0.43$; $p<0.0001$), permitiram demonstrar a significância desta relação e são compatíveis com a literatura existente, vindo ao encontro dos dados apresentados (LEE et al., 2009).

6.2 ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES EM RELAÇÃO AOS DADOS DEMOGRÁFICOS

De acordo com a literatura, mulheres são mais afetadas pela AR em uma proporção de aproximadamente 3:1 em relação aos homens, sendo que alguns estudos ressaltam pior prognóstico relacionado ao sexo feminino (SOKKA et al., 2009), embora tais dados sejam considerados controversos por alguns autores (VAN VOLLENHOVEN, 2009). Estudos na população brasileira têm demonstrado proporções mulher/ homem mais elevadas em relação à literatura internacional (7.3:1 a 9:1), o que provavelmente se deve à grande miscigenação da população estudada (SILVA et al., 2006a; MOTA et al., 2009). Tais achados corroboram com a proporção observada neste estudo (6.8:1) e destacam a importância dos fatores

étnicos e ambientais no desenvolvimento das DAI. Em adição, o sexo feminino mostrou influenciar de forma significativa na positividade para anti-CCP ($p=0.0263$; Tabela 5), conforme será abordado no item 6.3.

Por sua vez, nos familiares ($N=200$), a positividade para anti-CCP, FR e anti-CCP/FR se mostrou aumentada no sexo feminino, com tendência à significância para FR e CCP/FR em relação ao sexo masculino ($p=0.067$ e 0.082 , respectivamente; Gráfico 7). Chama a atenção as proporções mulher/homem observadas na triagem dos familiares (anti-CCP: 2.8:1, FR: 2.8:1 e CCP/FR: 4.1:0, respectivamente), o que não se evidenciou no grupo dos pacientes, já diagnosticados há mais tempo (6 meses a >10 anos; Gráfico 6), sugerindo o aparecimento precoce dos anticorpos nas mulheres e o potencial risco familiar que essas representam.

Tendo em vista a estreita relação entre a positividade para anti-CCP, precocidade de aparecimento e pior prognóstico da AR amplamente descrita (VAN DER LINDEN et al., 2009), os resultados obtidos se mostram coerentes com a literatura, que destaca maior gravidade da AR nas mulheres (PUOLAKKA et al., 2006). Dessa forma, esses achados tornam evidente a importância da adoção de medidas visando o manejo correto da AR, em especial no sexo feminino.

Em relação à idade dos pacientes e familiares em estudo (média 51.3 e 36.7 anos, respectivamente; Tabela 1), não foi observada variação na média das mesmas ao avaliar a frequência de pacientes e familiares positivos para anti-CCP, FR e anti-CCP/FR concomitantes (Tabelas 4 e 5). Sabe-se que pacientes idosos com AR necessitam frequentemente de cuidado e tratamento especiais, de modo que ferramentas como a determinação de auto-anticorpos podem ser de grande valor no manejo desses pacientes (FIEHN, KESSLER, 2009).

A AR costuma se manifestar entre a quarta e quinta década de vida, porém alguns estudos sugerem que alterações sorológicas podem ser detectadas muito antes do aparecimento das manifestações clínicas da doença (EL-GABALAWY, 2009). No presente estudo, os familiares positivos para anti-CCP e/ ou FR eram significativamente mais jovens do que os pacientes com AR positivos para esses auto-anticorpos (Gráfico 8). Segundo ROJAS-VILLARRAGA et al., (2009), a positividade para anti-CCP, em conjunto com história familiar positiva, caracteriza mau prognóstico para AR. A positividade observada em familiares relativamente

jovens pode ser indicativa de desenvolvimento de doença grave no futuro (NIELEN et al., 2004) e pode auxiliar o diagnóstico precoce da AR através do monitoramento desses indivíduos. Os dois familiares que já tiveram confirmado o diagnóstico de AR tinham idade de 31 e 42 anos (Tabela 7).

No contexto da prática clínica, a busca pelo diagnóstico e tratamento precoce da AR é atualmente o foco principal das ações do médico reumatologista. O caráter progressivo da doença permitiu que estudos populacionais identificassem a chamada “janela de oportunidade”, durante a qual o diagnóstico precoce em associação à intervenção terapêutica efetiva poderiam modificar de forma significativa o curso natural da AR (FURST, 2004). De fato, a intervenção terapêutica feita logo após o início dos primeiros sintomas da AR gera melhores benefícios comparada ao tratamento de início tardio (KLARENBECK et al., 2009). Portanto, o valor de estudos como o presente, envolvendo populações consideradas de risco para o desenvolvimento da AR tais como familiares de pacientes, podem contribuir de maneira significativa para a melhora na qualidade de vida desses indivíduos, bem como para a diminuição do ônus sócio-econômico relacionado ao caráter incapacitante da doença.

Corroborando ainda, os familiares com sorologia positiva detectados no estudo, além de significativamente mais jovens, são predominantemente do sexo feminino (Tabelas 7 e 8).

Por sua vez, o grau de parentesco em relação ao paciente tem demonstrado influenciar a prevalência de diversas DAI nos familiares (BOOK, ZONE, NEUHAUSEN, 2003; MOSCA et al., 2008). Segundo MICHOU et al. (2008b), a prevalência de DAI em familiares de 1º grau de pacientes com AR é significativamente maior em relação aos familiares de 2º grau. Considerando os aspectos recém colocados, embora a frequência dos anticorpos anti-CCP e/ou FR não tenham evidenciado diferença significativa em relação ao total de familiares de 1º grau (N=188) e 2º grau (N=12; Tabela 4), a avaliação dentre os indivíduos positivos mostrou uma proporção marcadamente superior para esses anticorpos nos familiares de 1º grau em relação aos familiares de 2º grau (10:1; Tabelas 7 e 8), corroborando com a literatura. Deve-se, no entanto, levar em consideração o número pequeno de familiares de 2º grau que participaram do estudo.

Em relação ao tabagismo, a análise da frequência dos anticorpos anti-CCP e/ou FR em pacientes e familiares fumantes e não fumantes não evidenciou diferenças significativas (Gráfico 9). No entanto, quando os dados dos pacientes foram submetidos à análise multivariada, foi possível caracterizar correlação entre tabagismo e sexo dos pacientes, nos indivíduos com positividade para anti-CCP, conforme será discutido no item 6.3. A associação entre o uso do tabaco e a positividade para o anti-CCP tem mostrado resultados ainda controversos nas diferentes populações (KLARESKOG et al., 2006; LEE et al., 2007).

6.3 ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS PACIENTES COM AR EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR

Enquanto a Tabela 5 evidencia a distribuição da frequência dos anticorpos anti-CCP e/ou FR nos pacientes com AR, de acordo com as variáveis em análise, a relação entre essas pode ser visualizada nos Gráficos 13, 14 e 15, obtidos a partir da análise multivariada dos dados.

Tanto o tabagismo como o sexo dos pacientes caracterizaram-se como variáveis que apresentam relação com a positividade do anti-CCP (Gráficos 13 e 15). Embora a correlação entre o tabaco e sexo especificamente tenha se mostrado fraca ($r=0.2203$; $p=0.035$, Apêndice 6), a análise das proporções, por regressão logística, evidenciou que por um lado o uso do tabaco pode elevar em 2.7 vezes a chance de uma reação positiva mais intensa para o anticorpo anti-CCP ($OR=2.7$; $95\%IC=2.36-3.03$), e por outro lado, que se o indivíduo for do sexo feminino e tabagista simultaneamente, essa chance se eleva para 7.7 vezes em relação ao sexo masculino tabagista ($OR=7.7$; $95\%IC=7.25-8.06$). O *odds ratio* permite a análise em relação à intensidade dos valores e, embora não defina um ponto de corte, indica de forma significativa a tendência.

A associação entre o uso do tabaco e a positividade para o anti-CCP já foi demonstrada em populações européias (KLARESKOG et al., 2006), no entanto dados semelhantes aos recém colocados são escassos e não foram encontrados na literatura nacional.

Já a associação com o tabagismo e FR não tem sido observada, fato que corrobora os achados no presente estudo (SKARE et al., 2002; LEE et al., 2009).

Embora o Gráfico 14 sugira relação entre FR, sexo e tabagismo, a influência das variáveis na positividade do mesmo foi mais fraca ($r=0.2039$; $p=0.064$; Apêndice 7), não atingindo $OR>1$ e IC estatisticamente aceitos. No Gráfico 15, onde se tem a projeção do anti-CCP e FR simultaneamente, é possível observar que o anti-CCP sofreu maior influência das variáveis em relação ao FR, inclusive do tabagismo. No entanto a determinação do OR/IC não foi possível em nenhuma das análises, provavelmente pela diluição da amostragem.

De acordo com MICHOU et al. (2008a), a associação anti-CCP/ fumo tem sido observada apenas em pacientes portadores do HLA-SE, sendo inexistente na ausência de tais alelos. Essa hipótese poderá ser testada em futuros estudos.

A análise das proporções restrita ao sexo e positividade para anti-CCP, mostrou que mulheres têm chance 19.8 vezes maior de apresentarem reação positiva mais intensa para anti-CCP quando comparadas aos homens ($OR=19.8$; $95\%IC= 19.61-19.96$; Tabela 6). Esses dados confirmam aspectos já abordados em relação à maior gravidade da doença nas mulheres, influência das concentrações e do valor preditivo do anti-CCP (SOKKA et al., 2009).

Inúmeras outras correlações fracas foram encontradas entre as demais variáveis investigadas e a positividade para anti-CCP e FR (Gráficos 13, 14 e 15). Dentre essas, tem-se a classe funcional e o tempo de duração da doença, onde se evidenciou uma correlação significativa entre ambas, porém de caráter fraco (Apêndices 6, 7 e 8), que não permitiu estabelecer associação estatisticamente válida com a intensidade das reações para anti-CCP e FR ($OR<1$), como se pode observar nos Gráficos 13, 14 e 15. Portanto, embora se observe aumento progressivo da frequência do anti-CCP, FR e CCP/FR concomitantes, de acordo com a piora do estado funcional do paciente e com o tempo de duração da doença (Tabela 5), é possível sugerir que não ocorre uma relação direta causa efeito entre ambas variáveis e os anticorpos. Estudos no Brasil e em outras populações mostrando ausência de relação desses parâmetros com a gravidade da AR corroboram tais achados (SILVA et al., 2006b; LEE et al., 2009).

Por sua vez, embora a idade de início da doença tenha sugerido uma relação com manifestações extra-articulares tais como síndrome de Sjögren, nódulos reumatóides e doença da tireóide na análise com FR positivo e CCP/FR concomitantes como condição de inclusão (Gráficos 14 e 15), nenhuma correlação

significativa foi caracterizada entre as variáveis (Apêndices 7 e 8). No entanto, na análise com anti-CCP ≥ 20 essa mostrou relação com tireoidite ($r=2189$; $p=0.036$; Apêndice 6), apesar de não atingir OR/IC estatisticamente aceitos. A frequência elevada do anti-CCP nos pacientes com idade de início de doença superior a 60 anos ($p=0.0907$; Tabela 5) pode ter relação com os achados. Estudos têm demonstrado que o envelhecimento é acompanhado por maior produção de auto-anticorpos pelo sistema imunológico, o que pode contribuir para a maior prevalência de DAI em idosos (MANAVALAN et al., 1998).

Dentre as manifestações extra-articulares, a correlação de nódulos reumatóides com sexo dos pacientes, embora fraca, se mostrou significante tanto em relação ao anti-CCP ($p=0.006$), FR ($p=0.026$) ou ambos concomitantes ($p=0.018$). Possivelmente, decorrente do número de pacientes com nódulos (14/156), essa relação não estabeleceu significância estatística. A ausência de relação direta entre sexo e nódulos com anti-CCP e/ou FR é facilmente visualizada nos Gráficos 13, 14 e 15. No entanto, ao se estratificar a análise para a presença e ausência de nódulos reumatóides, foi obtida relação com o anti-CCP ≥ 20 U ($OR=5.15$; 95%IC= 2.06-8.24; Tabela 6). Esse dado caracterizou que a chance de ocorrer reação positiva mais intensa para o anti-CCP é 5.15 vezes maior nos pacientes com nódulos reumatóides em relação àqueles sem nódulos. A elevada positividade para anti-CCP (78.6%) nos pacientes com nódulos, comparada ao FR (64.3%) e anti-CCP/FR concomitantes (57.1%; Tabela 5), corrobora os achados e ao mesmo tempo permite enfatizar o valor da análise das proporções (regressão logística), com a qual foi possível estabelecer a significância dessa relação. Diante do papel que representa a ocorrência de nódulos reumatóides na fisiopatogenia da AR, esses dados mostram de forma pioneira, na população do sul do Brasil, uma associação entre anti-CCP e gravidade da doença.

Ainda nesse contexto, tendo o FR como condição de inclusão, obteve-se correlação significativa entre nódulos reumatóides e síndrome de Sjögren ($r=0.3034$; $p=0.005$), a qual se manteve para anti-CCP/FR concomitantes ($r=2705$; $p=0.19$), embora mais fraca. Os Gráficos 14 e 15 evidenciam marcadamente a relação entre as duas variáveis, no entanto, é possível que em função do número pequeno de pacientes com nódulos reumatóides (14/156) e síndrome de Sjögren (43/143) não se tenha alcançado valores de significância para OR/ 95%IC. A ausência de correlação

entre essas manifestações extra-articulares com anti-CCP (Apêndice 6; Gráfico 13) permitem sugerir maior influência do FR nessa relação. Aumento do tamanho amostral em estudos futuros poderá trazer maior compreensão dessa relação na gravidade da AR.

É pertinente citar, no entanto, que síndrome de Sjögren secundária foi a manifestação extra-articular de maior prevalência nos pacientes com AR em estudo (30%; 40/143), destacando-se a positividade para anti-CCP nos mesmos (90.1%; 39/43; Tabela 5). De forma similar, estudos em outras populações também têm constatado elevada prevalência da síndrome de Sjögren secundária em pacientes com AR (CIMMINO et al., 1990; MARTINÉZ-CASTRO et al., 2000).

Por sua vez, pacientes com síndrome de Sjögren primária e positividade para anti-CCP apresentam maior prevalência de sinovite. Alguns autores sugerem que tais pacientes possuem maior pré-disposição para o desenvolvimento de AR (IWAMOTO et al., 2009).

Em estudo recente, KIM et al. (2008) encontraram relação entre a positividade para anti-CCP e aparecimento de manifestações extra-articulares na população coreana, entretanto esses achados não foram confirmados em outras populações (SGHIRI et al., 2008; KORKMAZ et al., 2006). A ocorrência de manifestações extra-articulares varia de acordo com a região geográfica e características étnicas da população estudada, sendo mais alta a prevalência em populações caucasianas, o que ressalta a importância dos fatores genéticos no desenvolvimento dessas comorbidades (TURESSON et al., 2003). Os dados obtidos no presente estudo corroboram tais aspectos e destacam o valor de análises clínico-laboratoriais minuciosas nas mais diferentes populações, visando o manejo mais adequado do paciente.

6.4 ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NOS FAMILIARES EM RELAÇÃO À POSITIVIDADE PARA ANTI-CCP E FR

O aparecimento precoce de auto-anticorpos no soro de pacientes com AR pode preceder em anos o aparecimento dos sintomas clínicos da doença (MAJKA et al., 2008). Alguns autores sugerem que mudanças sutis no perfil dos auto-

anticorpos, tais como alteração na especificidade e elevação dos títulos, sejam “gatilho” para o desenvolvimento da AR propriamente dita (CHIBNIK et al. 2009).

No presente estudo, do total de familiares anti-CCP positivos (N=11), apenas três não relataram queixas articulares. Todos os três eram FR negativos e dois do sexo masculino, sendo que um apresentou altos títulos de anti-CCP (121U) (Tabela 7). De acordo com a literatura, positividade para anti-CCP e FR, bem como sexo feminino, são características que pré-dispõem o paciente à AR mais grave (VAN DER LINDEN et al., 2009; SOKKA et al., 2009). O elevado número de mulheres anti-CCP positivas com queixas articulares no grupo de familiares deve ser levado em consideração para o acompanhamento mais criterioso das mesmas. Cabe ressaltar que recentemente, DEFRIN, SHRAMM e ELI (2009) demonstraram haver diferenças em relação à nocicepção entre os sexos, de tal forma que homens possuem limiar mais alto para a dor em relação às mulheres. Esse fato poderia estar relacionado à ausência de queixas articulares nos familiares anti-CCP positivos do sexo masculino.

Todos os familiares anti-CCP positivos foram chamados para avaliação clínica, dentre os quais 10 compareceram à consulta. Foi possível estabelecer diagnóstico de AR de acordo com o ACR em duas mulheres jovens que possuíam os títulos mais elevados dentre os familiares anti-CCP positivos, bem como FR positivo. A idade prematura de início de doença tem sido associada tanto a casos de AR familiar, como à presença do HLA-SE e à positividade para anti-CCP (LAIVORANTA-NYMAN et al. 2000; VARADÉ et al., 2009).

Considerando-se a predisposição familiar à AR, a idade relativamente jovem dos familiares com elevados títulos de anti-CCP e a presença de queixas articulares nos mesmos, torna-se recomendável o seu acompanhamento visando o diagnóstico precoce da AR. Todas as associações anteriormente descritas relacionadas aos pacientes e familiares do presente estudo, aliadas ao $OR= 19.8$ para a chance de CCP positivo mais intenso no sexo feminino e $OR= 7.65$ para sexo feminino/tabagismo respaldam tal recomendação. Tanto os benefícios relacionados à qualidade de vida como os custos inerentes ao tratamento justificam os esforços requeridos para o estabelecimento do diagnóstico precoce da AR.

A presença do anti-CCP em época pré-clínica está fortemente associada ao desenvolvimento de doença erosiva, o que não é observado em relação ao FR (MAJKA et al., 2008).

Cabe ressaltar que ainda não foi possível reavaliar o familiar que apresentou o maior título de positividade para o FR (1280UI/ml). Este também possuía títulos elevados para o anti-CCP (215U), sexo feminino, tabagismo e parentesco de 1º grau, além de queixas sugestivas de AR. Outros dois familiares, também com altos títulos de anti-CCP, ainda não tiveram diagnóstico de AR confirmado devido aos relatos de dor e edema não terem sido vistos objetivamente pelo médico (Tabela 7).

6.5 ANÁLISE DA POSITIVIDADE PARA OUTROS AUTO-ANTICORPOS E ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

Pacientes com AR apresentaram 19.9% de positividade para ao menos um dos demais auto-anticorpos investigados no estudo, enquanto os respectivos familiares apresentaram 15% (Apêndices 4 e 5). São inexistentes na literatura dados que permitam uma comparação, considerando o amplo painel de anticorpos avaliados simultaneamente.

6.5.1 ANTICORPOS ANTI-NUCLEARES EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

A ocorrência concomitante de LES e AR já foi amplamente descrita na literatura e recentemente ZHAO et al., (2009) demonstraram que a positividade para anti-CCP em pacientes com LES está fortemente associada à presença de artrite nos mesmos. Por sua vez, o presente estudo revelou positividade para FAN em 24 pacientes com AR (15.4%; $p= 0.070$), sendo a grande maioria do sexo feminino (83.3%). De forma similar, o grupo de familiares também apresentou positividade elevada para FAN (9.5%; Gráfico 17), sendo 68.4% mulheres, predominantemente com parentesco de 1º grau. Relatos na literatura associam positividade para FAN em pacientes com AR a risco maior para o desenvolvimento de manifestações extra-articulares tais como nódulos reumatóides (YOUNG, KODURI, 2007). Recentemente, BRUNS et al. (2009) relataram positividade de 44% para o FAN em pacientes com AR, porém a mesma mostrou estar relacionada significativamente ao tratamento. Não foram encontrados dados na literatura que permitissem comparação com a positividade obtida nos familiares, embora estudos relatem risco

de incidência de 2.13 vezes para LES em familiares de pacientes com AR (HEMMINKI et al., 2009).

O padrão de fluorescência detectado com maior frequência entre os pacientes FAN positivos foi nuclear pontilhado fino (20.8%; Gráfico 18; Apêndice 4), cuja relevância clínica está associada à síndrome de Sjögren primária e ao LES, porém nenhum desses pacientes preencheu até o momento os critérios diagnósticos para essas doenças. Uma paciente de 80 anos de idade e 11 anos de duração da doença, apresentou títulos elevados de FAN ($>1:1280$) e padrão de fluorescência nuclear pontilhado grosso, cuja relevância clínica está associada à doença mista do tecido conjuntivo, ao LES, bem como à AR. A paciente apresentava diagnóstico prévio de Síndrome de Sjögren. Outras duas pacientes, também com o mesmo diagnóstico prévio, apresentaram FAN padrão citoplasmático reticulado e citoplasmático pontilhado fino denso (títulos 1:640 e 1:80; 44 e 66 anos respectivamente). O padrão citoplasmático reticulado é associado com frequência à CBP e à presença de AMA, que foi detectado concomitantemente na paciente de 44 anos (título 1:80), a qual já se encontra em avaliação para função hepática.

Todos os indivíduos FAN positivos foram testados para anti-DNA, sendo encontrada positividade em apenas dois pacientes com AR (títulos 1:10 e 1:80). Os padrões de fluorescência para FAN nesses pacientes foram nuclear pontilhado fino denso (título 1:80), que não apresenta associação clínica bem estabelecida, e citoplasmático pontilhado fino denso (título 1:80), o qual está associado ao LES. Segundo RIBOLDI et al. (2005), a detecção do anticorpo anti-DNA através da técnica de IFI possui elevada especificidade para LES, tanto em relação a indivíduos sadios (100%) como quando comparados a pacientes com outras DAI que não LES (97.6%). Os indivíduos anti-DNA positivos serão ainda investigados para possíveis síndromes de sobreposição entre AR e LES.

Estudos mostram ainda relação entre positividade para anti-DNA e hábito de fumar (FREEMER, KING, CRISWELL, 2006). O paciente anti-DNA positivo com títulos mais elevados era tabagista.

Por sua vez, nos familiares de pacientes com AR positivos para FAN, o padrão de fluorescência mais frequente foi nuclear pontilhado fino denso (Gráfico 19), cuja correlação clínica ainda não está bem estabelecida, podendo ser encontrado inclusive em indivíduos sadios (DELLAVANCE et al., 2003). Cabe

ressaltar, no entanto, que um dos familiares anti-CCP positivo que teve confirmado o diagnóstico de AR, apresentou FAN padrão pontilhado fino denso (1:160) e, embora não tenha atendido aos critérios diagnósticos para LES, será acompanhado visando identificação de possível superposição entre essas doenças. Em relação aos demais padrões observados, serão investigadas oportunamente possíveis associações clínicas. Com exceção de mais dois familiares com título de reação 1:160, todos os demais apresentavam títulos baixos (1:80).

Curiosamente, dentre os pacientes FAN positivos, 54.2% (13/24) eram tabagistas e dentre os familiares 15.8% (3/19). Já foi descrita associação entre uso do cigarro e desenvolvimento de lúpus eritematoso, sendo altamente recomendável o abandono desse hábito pelo usuário (KLARESKOG, PADYUKOV, ALFREDSSON, 2007; BOECKLER et al., 2009)

Em relação ao grupo de comparação, a positividade obtida para FAN foi de 7% (7/ 100), sendo dois com títulos considerados moderados (1:160 e 1:320) e cinco com títulos baixos (1:80). A literatura internacional sugere que 5% dos indivíduos sadios apresentam positividade para FAN em títulos moderados (1:160), sendo que para títulos baixos a positividade pode dobrar (BAGNASCO, GRASSIA, PESCE, 2007). Já estudos na população hígida brasileira relatam frequências que variam de 12.6 a 22.6% (SANTOS et al., 1997; FERNANDEZ et al., 2003; HILARIO et al., 2004). Segundo DELLAVANCE et al. (2009), indivíduos sadios quando positivos para FAN, tendem a apresentar títulos baixos. De qualquer maneira, deve-se sempre considerar o padrão de fluorescência apresentado, bem como os aspectos clínicos presentes. A detecção de 7% para FAN HEp-2 na população do sul do Brasil é um dado pioneiro e poderá servir de base para outros estudos.

No que diz respeito à prática clínica, estudos recentes ressaltam a importância da intensidade do título do FAN na avaliação do seu significado (VERSTEGEN et al., 2009). Amostras positivas em títulos baixos só devem ser posteriormente investigadas através de exames adicionais diante de achados clínicos fortemente sugestivos de doenças caracterizadas por FAN positivo. As queixas mais frequentes entre familiares FAN positivos não são sugestivas de doenças associadas à positividade para esse auto-anticorpo e sugerem apenas observação e avaliação esporádica dos mesmos (Quadro 5).

A positividade para FAN encontrada nos pacientes com AR mostrou-se mais elevada quando comparada a obtida no grupo de familiares, tanto em relação aos títulos como quanto à diversidade de padrões de fluorescência encontrados. Além disso, pacientes FAN positivos apresentaram com maior frequência associações clínicas importantes relacionadas a essa positividade. Tais características sugerem que a positividade para auto-anticorpos encontrada em pacientes com DAI deve ser considerada com maior cautela em relação às observadas em indivíduos sadios.

6.5.2 AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS EM PACIENTES COM AR E FAMILIARES

Como já mencionado anteriormente, as DAI ocorrem freqüentemente em familiares de pacientes acometidos pelas mesmas, sendo que casos de agregação familiar de LES, anemia perniciosa, AR, esclerose múltipla, doença da tireóide entre outras têm sido relatados por diferentes autores (LABERGE et al., 2005; HEMMINKI et al., 2009).

A positividade para os auto-anticorpos órgão-específicos nos familiares foi similar à apresentada pelos pacientes com AR (6% e 5.1% respectivamente; Gráfico 20). Não foram encontrados dados na literatura que permitissem comparações.

Não houve diferença significativa entre a positividade para os auto-anticorpos órgão-específicos nos pacientes em relação aos familiares, o que reforça a hipótese de que familiares de pacientes com AR estão mais pré-dispostos ao desenvolvimento de DAI (MICHOU et al. 2008b; HEMMINKI et al., 2009). Por sua vez, observou-se diferença significativa dessa positividade nos familiares em relação ao grupo de comparação ($p=0.036$). Estudos têm relatado associação entre AR e outras DAI, bem como agregação familiar das mesmas, sendo importante o clínico estar atendo a essas possíveis associações (KOJIMA et al., 2002; MICHOU et al., 2008b).

Dentre os auto-anticorpos órgão-específicos, observou-se maior positividade do anti-CGP em pacientes e familiares, porém sem diferença significativa em relação ao grupo de comparação (Gráfico 21). A positividade do anti-CGP nos pacientes (3.2%) se aproxima da positividade detectada por ATZENI et al (2008) em pacientes com AR da Itália (5%). Já nos familiares (3.5%) essa se assemelha à encontrada em

familiares de pacientes com DC (3.76%), também do sul do Brasil (NASS, 2008), e aos pacientes com AR analisados no presente estudo. Recentemente, HEMMINKI et al. (2009) relataram risco de incidência de 1.53 vezes para a anemia perniciosa em familiares de pacientes com AR.

Os familiares anti-CGP positivos relataram dores abdominais, anemia e sonolência exagerada, sintomas que podem estar presentes em quadros de anemia por deficiência de vitamina B12. Considerando-se os títulos de anti-CGP, seis familiares apresentaram títulos altos (cinco 1:160 e um 1:320), sendo um desses familiares (sexo ♂; 57 anos) positivo também para anti-CCP com título forte (121U). O mesmo não teve diagnóstico de AR confirmado.

Dois familiares foram positivos para EmA-IgA com títulos considerados altos (1:40 e 1:160), porém a comparação entre pacientes e familiares para este e os demais auto-anticorpos não mostrou diferença significativa em relação ao grupo de comparação. Os dois familiares EmA-IgA positivos são irmãos e ambos relataram perda de peso, dor abdominal, constipação, anemia e alergia cutânea, condições intimamente relacionadas à DC. Os anticorpos EmA-IgA estão envolvidos diretamente na patogênese da DC (KOTZE et al., 2003), e sua detecção constitui um dos testes mais específicos para o diagnóstico dessa doença, além de ser útil na monitorização da dieta isenta de glúten. Entretanto, para confirmação do diagnóstico da DC é imprescindível a realização da biópsia de intestino delgado (BAI, 2005; UTIYAMA et al., 2009). Diante disso, os familiares EmA-IgA positivos foram encaminhados ao Serviço de Gastroenterologia do Hospital Evangélico e aguardam confirmação do diagnóstico.

Estudos têm demonstrado maior prevalência de auto-anticorpos órgão-específicos em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1, bem como em pacientes com DC e seus familiares (De GRAAFF, SMIT, RADDER, 2007; NASS, 2008). Pacientes com AR não mostraram maior prevalência de anticorpos EmA-IgA, segundo NISHIHARA et al. (2007), porém estudos relatam risco de incidência de aproximadamente 1.25 vezes para DC em familiares de pacientes com AR (HEMMINKI et al., 2009).

Nenhum dos pacientes positivos para os auto-anticorpos órgão-específicos apresentava sintomas sugestivos de doença associada aos mesmos.

O familiar AML positivo (título 1:160) relatou quadros de icterícia e anemia, que podem estar relacionados à hepatite autoimune tipo 1 e cirrose biliar primária. Os testes hepáticos desse, assim como do paciente e familiar AMA positivos, serão realizados futuramente.

Nesse contexto, cabe ainda ressaltar que a presença de auto-anticorpos nem sempre se traduz em doença, porém a positividade pode ser considerada fator de risco para seu desenvolvimento, tendo em vista o papel de muitos auto-anticorpos na patogênese das DAI (BAGNASCO, GRASSIA, PESCE, 2007).

Grande número de DAI prévias ao estudo foi identificado tanto em pacientes como em familiares, sendo maior a frequência de síndrome de Sjögren e tireoidite autoimune. Nesses indivíduos foi também observada positividade para os auto-anticorpos investigados, evidenciando forte relação entre essas afecções imunológicas (Fluxograma 2).

6.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A AR é uma doença de caráter autoimune e debilitante cuja etiologia exata ainda permanece desconhecida. Apesar do relevante progresso registrado nos últimos anos, ainda persistem muitas dúvidas e dificuldades no manejo correto da doença, e pacientes com AR morrem precocemente devido às co-morbidades relacionadas à mesma (GABRIEL, 2008). A caracterização dos auto-anticorpos como marcadores precoces e do prognóstico de DAI tem sido demonstrada por diversos estudos ao longo do tempo e os mesmos são atualmente considerados ferramentas de grande relevância tanto na prática clínica como na triagem de populações de risco (NISHIMURA, et al., 2007).

A agregação familiar de DAI já foi caracterizada em algumas populações e familiares de pacientes afetados representam grupo de risco para o desenvolvimento dessas doenças (MICHOU et al., 2008b). Nesse contexto, muitos indivíduos poderiam ser beneficiados diante do diagnóstico precoce e tratamento adequado da doença.

Conforme demonstrado, pacientes com AR e seus familiares apresentam positividade para diversos auto-anticorpos, sendo que essa positividade se associou a presença de DAI em alguns deles. Além disso, foi possível verificar a existência de

DAI prévias ao estudo em concomitância com a positividade para diferentes auto-anticorpos, o que ressalta a associação entre soropositividade e presença de doença. Muitos dos auto-anticorpos investigados podem estar relacionados ao desenvolvimento de DAI no futuro. Portanto, o acompanhamento dos indivíduos que apresentaram tal positividade, bem como a correta orientação dos demais familiares, poderá contribuir de maneira significativa para a diminuição da morbi-mortalidade relacionada às DAI, em especial, à AR.

7 CONCLUSÕES

A análise dos dados do presente estudo levou às seguintes conclusões:

- Os pacientes com AR apresentaram elevação significativa na frequência de anti-CCP e FR em relação a indivíduos saudáveis da mesma área geográfica;
- O aumento significativo do anti-CCP em familiares de pacientes com AR é dado pioneiro no sul do Brasil e pode representar marcador precoce de AR. A ausência de significância para o FR respalda esse achado;
- A maior positividade de anti-CCP nos familiares do sexo feminino, jovens e com parentesco de 1º grau sugere risco familiar para AR, e a concomitância do FR nesse grupo pode constituir pior prognóstico;
- A confirmação do diagnóstico de AR em dois familiares, corrobora o valor de estudos sorológicos na triagem de indivíduos sob risco;
- Foi encontrada elevada proporção mulher/ homem (6.8:1) nos pacientes com AR do sul do Brasil;
- Os pacientes do sexo feminino apresentaram chance 19.8 vezes maior (OR 19.8) para anti-CCP de maior intensidade em relação ao sexo masculino;
- O tabagismo aumentou em 2.7 vezes (OR 2.7) a chance de anti-CCP mais intenso nos pacientes em geral, e em 7.7 vezes (OR 7.7) no sexo feminino;
- A chance de anti-CCP mais intenso foi 5.15 vezes (OR=5.15) maior nos pacientes com nódulos reumatóides;

- Correlações significantes entre tempo de duração de doença e classe funcional, manifestações extra-articulares entre si, idade de início de doença e manifestações extra-articulares, entre outras, foram observadas, porém não permitiram estabelecer uma relação causa efeito direta com os anticorpos anti-CCP e/ou FR;
- A positividade para FAN nos pacientes com AR e familiares, com predomínio no sexo feminino, mostrou tendência à significância nos pacientes em relação aos indivíduos saudáveis. A diversidade de padrões de fluorescência e títulos elevados nos pacientes recomenda cautela na interpretação desses achados;
- Familiares de pacientes com AR apresentaram positividade elevada para auto-anticorpos órgão-específicos em relação ao grupo de comparação, sugerindo maior pré-disposição ao desenvolvimento de DAI;
- A ocorrência de outras DAI prévias ao estudo em pacientes e familiares reforça a hipótese de predisposição genética e agregação familiar das mesmas;
- O caráter incapacitante, o agravamento por co-morbidades e o elevado impacto sócio-econômico da AR destacam o valor do diagnóstico precoce e a contribuição de estudos de triagem em indivíduos de risco.

REFERÊNCIAS

AFZALI, B. et al. The role of T helper 17 and regulatory T cells in human organ transplantation and autoimmune disease. **Clin Exp Immunol.**, v. 148, p. 32-46, 2007.

ALAMANOS, Y.; VOULGARI, P. V.; DROSOS, A. A. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. **Semin.Arthritis Rheum.**, v.36, p. 182-188, 2006.

ALARCO'N-SEGOVIA, D. et al. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis, and Other Autoimmune Diseases in 1,177 Lupus Patients From the GLADEL Cohort. **Arthritis Rheum.**, v. 52, n. 4, p. 1138-1147, 2005.

ALARCÓN-RIQUELME, M. E. Recent advances in the genetics of autoimmune diseases. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 1110, p. 1-9, 2007.

ALBANI, S.; CARSON, D. A. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: KOOPMAN, W. J. **Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology.** 13 ed, Baltimore: Williams & Wilkins, 1997, p. 979-92.

ALEMANY-RODRIGUEZ, M. J. et al. [Autoimmune diseases and multiple sclerosis]. **Rev Neurol.**, v. 40, n. 10, p. 594-7, 2005.

ALESSANDRI, C. et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFalpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. **Ann Rheum Dis.**, v. 63, n. 10, p. 1218 – 22, 2004.

ALESSANDRI, C. et al. The Role of Anti-Cyclic Cytrullinate Antibodies Testing in Rheumatoid Arthritis. **Clinic Rev Allerg Immunol.**, v. 34, p. 45-49, 2008.

ALIVERNINI, S. et al. Citrullination: the loss of tolerance and development of autoimmunity in rheumatoid arthritis. **Reumatismo**, v. 60, n. 2, p. 85 – 94, 2008.

ANAYA J. M. et al. Autoimmune disease aggregation in families with primary Sjögren's syndrome. **J Rheumatol.**, v. 33, n. 11, p. 2227-34, 2006.

ANAYA, J. M. et al. The kaleidoscope of autoimmunity: multiple; autoimmune syndromes and familial autoimmunity. **Expert Rev Clin Immunol**, v. 3, p. 623-35, 2007.

ANDONOPOULOS, A. P. et al. Thyroid function and autoimmune profile in rheumatoid arthritis. A controlled study. **Clin Rheumatol.**, v. 15, p. 599-603, 1996.

ANDRADE, L. E. et al. 3 Consenso Brasileiro para pesquisa de auto-anticorpos em células HEp-2 (FAN). Recomendações para padronização do ensaio de pesquisa de

auto-anticorpos em células HEp-2, controle de qualidade e associações clínicas. **Rev Bras Reumatol.**, v. 49, p. 89-109, 2008.

ARBUCKLE, M. R. et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. **N Engl J Med.**, v. 349, p. 1526 – 33, 2003.

ARLEEVSKAIA, M. I.; SHILKINA, N. P.; TSIBUL'KIN, A. P. Clinical and laboratory markers of immune dysfunction in patients with rheumatoid arthritis and their blood relatives. **Ter Arkh.**, v. 77, n. 5, p. 26-9, 2005.

ARNETT, F. C. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 31, p. 315-24, 1988.

ASHERSON, R.A. et al. Multiple autoimmune diseases in a young woman: tuberculosis and splenectomy as possible triggering factors? Another example of the "mosaic" of autoimmunity. **J Rheumatol.**, v. 35, n. 6, p.224-6, 2008.

ASKLING, J.; DIXON, W. The safety of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis. **Curr Opin Rheum.**, v. 20, p. 138 – 144, 2008

ATZENI, F. et al. Anti-thyroid antibodies and thyroid dysfunction in rheumatoid arthritis: prevalence and clinical value. **Autoimmunity**, v. 41, n. 1, p. 111-5, 2008.

[javascript:PopUpMenu2_Set\(Menu3358796\);](#)

AYDOG, E. et al. *Dermatitis herpetiformis* and rheumatoid arthritis. **Saudi Med J.**, v. 27, n. 6, p. 881-4, 2006.

BAGNASCO, M.; GRASSIA, L.; PESCE, G. The management of the patient with unexpected autoantibody positivity. **Autoim Rev.**, v. 6, p. 347-853, 2007.

BARCELLOS, L. F. et al. Clustering of autoimmune diseases in families with a high-risk for multiple sclerosis: a descriptive study. **Lancet Neurol.**, v. 5, n. 11, p. 924-31, 2006.

BÉRTOLO, M. B. et al. Atualização do Consenso Brasileiro no Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatóide. **Rev Bras Reumatol.**, v. 47, n.3, p. 151-159, 2007.

BIGAZZI P. E., ROSE N. R. Pruebas para anticuerpos contra antígenos tissulares específicos. In: ROSE N. R., FRIEDMAN H. **El laboratorio en inmunología clínica**. 2ed. Buenos Aires: Editorial Medica Pan Americana, 1984. p. 968-979.

BOECKLER, P. et al. Association of cigarette smoking but not alcohol consumption with cutaneous lupus erythematosus. **Arch Dermatol.**, v. 145, n. 9 p. 1012-6, 2009.

BOOK, L.; ZONE, J. J.; NEUHAUSEN, S. L. Prevalence of celiac disease among relatives of sib pairs with celiac disease in U.S. families. **Am J Gastroenterol.**, v.98, n.2, p.377-381, 2003.

BRENNAN, F. M.; McINNES, I. B. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. **J CLin Invest.**, v. 118, n. 11, p. 3537 – 3545, 2008.

BUCKLEY, C. D. Science, medicine, and the future: treatment of rheumatoid arthritis. **BMJ**, v. 315, p. 236-38, 1997.

BUGATTI, S. et al. B cells in rheumatoid arthritis. **Autoimmun Rev.**, v.6, p.482–87, 2007.

BUREK, C. L.; ROSE, N. R. Autoantibodies. In: COLVIN, R. B.; BHAN, A. K.; McMILLUSKEY, R. T. **Diagnostic Immunopathology**. 2 ed. New York: Raven Press, 1995. p. 207-230.

BURNEVICH, E Z.; LOPATKINA, T.N. [System manifestations of primary biliary cirrhosis]. **Klin Med (Mosk)**., v. 84, n. 12, p. 42-6, 2006.

CANTAERT, T. et al. Alterations of the synovial T cell repertoire in anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 60, n. 7, p. 944–56, 2009.

CAPPUZZO, K. A. Diagnosis and treatment of early active rheumatoid arthritis. **Consult Pharm.**, v. 23, n. 12, p. 956–61, 2008.

CARAMELLA, C. et al. Association between rheumatoid arthritis and primary biliary cirrhosis. **Joint Bone Spine**, v. 74, n. 3, p. 279-81, 2007.

CHIBNIK, L. B. et al. Comparison of threshold cut-points and continuous measures of anti-CCP antibodies in predicting future RA. **J Rheumatol.**, v. 36, p. 706-11, 2009.

CHURCHMAN, S. M.; PONCHEL, F. Interleukin-7 in rheumatoid arthritis. **Rheumatol.**, v. 47, n. 6, p. 753 – 9, 2008.

CIMMINO, M. A. et al. Extra-articular manifestations in 587 Italian patients with rheumatoid arthritis. **Rheumatol Int.**, v. 19, p. 213-7, 2000.

CLAVEL, C. et al. Induction of macrophage secretion of TNF α through Fc γ receptor IIa engagement by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins complexed with fibrinogen. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 3, p. 678-88, 2008.

CONSTANTINESCU, F. et al. Racial disparities in treatment preferences for rheumatoid arthritis. **Med Care.**, v. 47, n. 3, p. 350 – 5, 2009.

COPE, A. P.; SCHULZE-KOOPS, H.; ARINGER, M. The central role of T cells in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, v. 25, n. 5, suppl 46, p. S4-11, 2007.

COSTENBADER, K. H.; MANSON, J. E. Do female hormones affect the onset or severity of Rheumatoid Arthritis? **Arthritis Rheum.**, v.59, n. 3, p. 299-301, 2008.

CRISCIONE, L. G.; St. CLAIR E. W. Tumor necrosis factor-alfa antagonists for the treatment of rheumatic diseases. **Curr Opin Rheumatol.**, v.14, p. 204-11, 2002.

D'ELIA, H. F. et al. Hormone replacement therapy in rheumatoid arthritis is associated with lower serum levels of soluble IL-6 receptor and higher insulin-like growth factor 1. **Arthritis Res Ther.**, v. 5, n. 4, p. R202-9, 2003.

De GRAAFF, L. C., SMIT, J. W., RADDER, J. K. Prevalence and clinical significance of organ-specific autoantibodies in type 1 diabetes mellitus. **Neth J Med.**, v. 65, n. 7, p. 235-47, 2007.

DEFERIN, R.; SHRAMM, L.; ELI, I. Gender role expectations of pain is associated with pain tolerance limit but not with pain threshold. **Pain.**, v. 145, n. 1-2, p. 230-6, 2009.

DELGADO-VEGA, A. M.; ANAYA, J. M. Meta-analysis of HLA-DRB1 polymorphisms in Latin American patients with rheumatoid arthritis. **Autoimmun Rev.**, v. 6, n. 6, p. 402-8, 2007.

DELLAVANCE, A. et al. II Consenso Brasileiro de fator antinuclear em células HEp-2. **Rev Bras Reumatol**, v. 43, n. 3, p. 129 - 141, 2003.

DELLAVANCE, A. et al. 3º Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2 (FAN). Recomendações para padronização do ensaio de pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2, controle de qualidade e associações clínicas. **Rev Bras Reumatol.**, v. 49, n. 2, p. 89-109, 2009.

EL-GABALAWY, H. The preclinical stages of RA: lessons from human studies and animal models. **Best Pract Res Clin Rheumatol.**, v. 23, p. 49-58, 2009.

EMERY, P. Treatment of rheumatoid arthritis. **BMJ**, v. 332, n. 7534, p. 152-5, 2006.

FABIEN, N. et al. Prevalence of Autoantibodies to Cyclic Citrullinated Peptide in Patients with Rheumatic Diseases other than Rheumatoid Arthritis: A French Multicenter Study. **Clin Rev Allergy Immunol.**, v. 34, n. 1, p. 40 – 4, 2008.

FATHI, N. A., et al. Diagnostic performance and predictive value of rheumatoid factor, anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies and HLA-DRB1 locus genes in rheumatoid arthritis. **Int Arch Med.**, v. 22, n. 1, 2008.

FELDMANN, M.; BRENNAN, F. M. Rheumatoid Arthritis. **Cell**, v. 85, p. 307 – 310, 1996.

FELSON, D.T. Comparing the prevalence of rheumatic diseases in China with the rest of the world. **Arthritis Res Ther.**, v. 10, n. 1, p. 106, 2008.

FERNANDEZ, S. A. V. et al. Prevalence of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. **Rev Hosp Clin Fac Med S. Paulo**, v. 58, p. 315-9, 2003.

FERRO, M.T. et al. A case of multiple sclerosis with atypical onset associated with autoimmune hepatitis and silent coeliac disease. **Neurol Sci.**, v. 29, n.1, p. 29-31, 2008.

FERUCCI, E. D., TEMPLIN, D. W., LANIER, A. P. Rheumatoid arthritis in American Indians and Alaska Natives: a review of the literature. **Semin Arthritis Rheum.**, v. 34, n. 4, p. 662-7, 2005.

FIEHN, C.; KESSLER, S. Ist das Therapieansprechen bei älteren Patienten mit rheumatoider Arthritis reduziert? **Z Rheumatol.**, v. 68, p. 69–74, 2009.

FIKE, D. J. Non-organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clin Immunol**, 2 ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. p. 283-96 (a).

FIKE, D. J. Organ-specific autoimmune disease. In: SHEEHAN, C. **Clin Immunol**. 2 ed. Philadelphia: Lippincott, 1997. p. 297-304 (b).

FIRESTEIN, G. S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, v. 5, n. 423, p. 356-61, 2003.

FREEMER, M. M.; KING, T. E; CRISWELL, L. A. Association of smoking with dsDNA autoantibody production in systemic lupus erythematosus. **Ann Rheum Dis.**, v. 65, p. 581–584, 2006.

FURST, D. E. Window of opportunity. **J Rheumatol.**, v. 31, n. 9, p. 1677-9, 2004.

FUSCONI, M. et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in type 1 autoimmune hepatitis. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 22, n. 10, p. 951-5, 2005.

GABRIEL, S. E. Why do people with rheumatoid arthritis still die prematurely? **Ann Rheum Dis.**, v. 67, suppl 3:iii, p.30-4, 2008.

GALATI, S. et al. [Comparison and relevance of rheumatoid factors, antikeratin antibodies and anti-cyclic citrullinated peptides antibodies in rheumatoid arthritis]. **Ann Biol Clin.**, v. 66, n. 2, p. 157-64, 2008.

GANDJBAKHCH, F. et al. A functional haplotype of PADI4 gene in rheumatoid arthritis: positive correlation in a French population. **J Rheumatol.**, v. 36, n. 5, p. 881 – 6, 2009.

GOODSON, N. J., FARRAGHER, T. M., SYMMONS, D. P. Rheumatoid factor, smoking, and disease severity: associations with mortality in rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, v. 35, n. 6, p. 945-9, 2008.

GRANITO, A. et al. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. **J Clin Pathol.**, v. 59, n. 3, p. 280–284, 2006.

GRANITO A., et al. Diagnosis and therapy of autoimmune hepatitis. **Mini Rev Med Chem.**, v. 9, n. 7, p. 847-60, 2009.

GRANT, S. F. et al. The inheritance of rheumatoid arthritis in Iceland. **Arthritis Rheum.**, v. 44, n. 10, p. 2247-54, 2001.

HABASH-BSEISO, D. E. et al. Serologic testing in connective tissue diseases. **Clin Med Res.**, v. 3, n. 3, p. 190-193, 2005.

HARNEY, S.; WORDSWORTH, B. P. Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis. **Tissue Antigens.**, v. 60, n. 6, p. 465-73, 2002.

HAYASHI, N. et al. Prevalence of disease-specific antinuclear antibodies in general population: estimates from annual physical examinations of residents of a small town over a 5-year period. **Mod Rheumatol.**, v. 18, p. 153- 60, 2008.

HEINZLEF, O et al. Autoimmune diseases in families of French patients with multiple sclerosis. **Acta Neurol Scand.**, v. 101, n. 1, p. 36 – 40, 2000.

HELLMANN, D. B.; STONE, J. H. Arthritis & Musculoskeletal Disorders. In: TIERNEY, L. M. et al. **Curr Med Diag Treat.**, 43rd ed. New York: McGraw-Hill, p. 797-825, 2004.

HEMMINKI, K. et al. Familial associations of rheumatoid arthritis with autoimmune diseases and related conditions. **Arthritis Rheum.**, v. 60, n. 3, p. 661-8, 2009.

HILARIO, M.O. et al. Frequency of antinuclear antibodies in healthy children and adolescents. **Clin Pediatr**, v. 43, p. 637-42, 2004.

HITCHON, C. A.; EL-GABALAWY, H. S. Oxidation in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther.**, v. 6, p. 265-278, 2004.

HOUSE, D. V.; NAKAMURA, M.; WINTER, W. E. Autoimmune markers of type I diabetes *mellitus*. In: NAKAMURA, R. M., BUREK, C. L., COOK, L., FOLDS, J. D., eds. **Clinical Diagnostic Immunology**: protocols in quality assurance and standardization. Cambridge: Blackwell Science, 1998. p. 234-249.

HUANG, C. M., YANG, Y. H., CHIANG, B. L. Different familial association patterns of autoimmune diseases between juvenile-onset systemic lupus erythematosus and juvenile rheumatoid arthritis. **J Microbiol Immunol Infect.**, v. 37, n. 2, p. 88 – 94, 2004.

HUGHES, L. B. et al. The HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 2, p. 349-58, 2008.

IOAN-FACSINAY, A. et al. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. **Arthritis Rheum.**, v. 58, p. 3000 – 8, 2008..

INBODEM, J. B. The Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **Annu Rev Pathol Mech Dis.**, v. 4, p. 417 – 434, 2009.

INVERNIZZI, P. The X chromosome in female-predominant autoimmune diseases. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 1110, p. 57-64, 2007.

IWAMOTO, N, et al. Determination of the subset of Sjögren's syndrome with articular manifestations by anti cyclic citrullinated peptide antibodies. **J Rheumatol.**, v. 36, p. 113-5, 2009.

JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia:** o sistema imune na saúde e na doença. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.p. 848.

JORGENSEN, S. P., et al. Vitamin D insufficiency--possible etiologic factor of autoimmune diseases. **Ugeskr Laeger.**, v.169, n. 43, p. 3655-60, 2008.

KATSCHKE, K. J. J. et al. A novel inhibitor of the alternative pathway of complement reverses inflammation and bone destruction in experimental arthritis. **J Exp Med.**, v. 204, n. 6, p. 1319-25, 2007.

KILPATRICK, D. C. Mannan-binding lectin: clinical significance and applications. **Biochim Biophys Acta.**, v.1572, n. 2-3, p. 401-13, 2002.

KIM, S. K. et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, smoking, alcohol consumption and disease duration as risk factors for extra-articular manifestations in Korean patients with rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, v. 35, p. 995-1001, 2008.

KINLOCH, A. et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 8, p. 2287-95, 2008.

KISHIMOTO, T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. **Annu Rev Immunol.**, v. 23, p. 1 – 21, 2005.

KISHIYAMA, J. L.; ADELMAN, D. C. Allergic & Immunologic Disorders. In: TIERNEY, L. M. et al. **Curr Med Diag Treat.** 43rd ed. New York: McGraw-Hill, 2004. p. 753-770.

KLARENBECK, N. B. et al. The BeSt story: on strategy trials in rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, v. 31, n. 9, p. 1677-9, 2004.

KLARESKOG, L. et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. **Arthritis Rheum.**, v. 54, n. 1, p. 38-46, 2006.

KLARESKOG, L., PADYUKOV, L., ALFREDSSON, L. Smoking as a trigger for inflammatory rheumatic diseases. **Curr Opin Rheumatol.**, v. 19, n. 1, p. 49-54, 2007.

KLARESKOG, L.; WEDREN, S.; ALFREDSSON, L. On the origins of complex immune-mediated disease: the example of rheumatoid arthritis. **J Mol Med.**, v. 87, n. 4, p. 357-62, 2009.

KOJIMA, H. et al. Clinical features of liver disturbance in rheumatoid diseases: clinicopathological study with special reference to the cause of liver disturbance. **J Gastroenterol.**, v. 37, n. 8, p. 617-25, 2002.

KOJIMA, M. et al. Depression, inflammation, and pain in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 61, n. 8, p. 1018 – 1024, 2009.

KORKMAZ, C. et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in patients with long standing rheumatoid arthritis and their relationship with extra-articular manifestations. **Clin Bioch.**, v. 39, p. 961-5, 2006.

KOTZE, L. M. S. et al. IgA class antiendomysial and anti-tissue transglutaminase antibodies in relation to duodenal mucosa changes in celiac disease. **Pathology**, v. 1, n. 35, p. 56-60, 2003.

KOTZE, L. M. S. et al. Thyroid disorders in Brazilian patients with celiac disease. **J Clin Gastroenterol.**, v.40, n.1, p. 33-6 2006.

KOTZE, L. M. A Brazilian experience of the self transglutaminase-based test for celiac disease case finding and diet monitoring. **World J Gastroenterol.**, v. 21, n. 15, p. 4423-8, 2009.

KOTZE, L. M. et al. Anti-saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in first-degree relatives of celiac disease patients. **J Clin Gastroenterol.**, doi: 10.1097/MCG.0b013e3181bea0d42009b.

KOUMANTAKI, Y. et al. Family history as a risk factor for rheumatoid arthritis: a case-control study. **J Rheumatol.**, v. 24, n. 8, p. 1522-6, 1997.

KRAMER, P. R.; KRAMER, S. F.; GUAN, G. 17 beta-estradiol regulates cytokine release through modulation of CD16 expression in monocytes and monocyte-derived macrophages. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 6, p. 1967-75, 2004.

KWOH, C. K. et al. Age, sex, and the familial risk of rheumatoid arthritis. **Am J Epidemiol.**, v.144, n. 1, p.15-24, 1996.

LABERGE, G. et al. Early disease onset and increased risk of other autoimmune diseases in familial generalized vitiligo. **Pigment Cell Res.**, v. 18, n. 4, p. 300-5, 2005.

LADINSER B., ROSSIPAL E., PITTSCHIELER K. Endomysium antibodies in celiac disease: an improved method. **GUT**, v. 6, n. 35, p. 776-778, 1994.

LAIVORANTA-NYMAN, S. et al. Immunogenetic differences between patients with familial and non-familial rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v.59, n.3 , p. 173-7, 2000.

LEE, A. N.; BECK, C. E.; HALL, M. Rheumatoid factor and anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review. **Clin Lab Sci.**, v. 21, n. 1, p. 15-8, 2008.

LEE, D. M.; WEINBLATT, M. E. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 358, p. 903-11, 2001.

LEE, D. M. et al. Quantifying anti-cyclic citrullinated peptide titres: clinical utility and association with tobacco exposure in patients with rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 68, n. 2, p. 201-8, 2009.

LI, M. et al. The critical role of toll-like receptor signaling pathways in the induction and progression of autoimmune diseases. **Curr Mol Med.**, v. 9, n. 3, p. 365-74, 2009.

LIAO, K. P.; ALFREDSSON, L.; KARLSON, E. W. Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. **Curr Opin Rheumatol.**, v. 21, n. 3, p. 279- 83, 2009.

LINDQVIST, E. et al. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 64, n. 2, p. 196-201, 2005.

LING, S. et al. Activation of nitric oxide signaling by the rheumatoid arthritis shared epitope. **Arthritis Rheum.**, v. 54, p. 3423 – 32, 2006.

LORENTZEN, J. C. et al. Identification of rat susceptibility loci for adjuvant-oil-induced arthritis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 95, p. 6383 – 7, 1998.

LUNDKVIST, J.; KASTANG, F.; KOBELT, G. The burden of rheumatoid arthritis and access to treatment: health burden and costs. **Eur J Health Econ.**, v. 8 suppl 2, p. S49-60, 2008.

MAJITHIA, V.; GERACI, S. A. Rheumatoid arthritis: diagnosis and management. **Am J Med.**, v. 120, n. 11, p. 936 – 9, 2007.

MAJKA, D. S., et al. Duration of preclinical RA-related autoantibody positivity increases in subjects with older age at time of disease diagnosis. **Ann Rheum Dis.**, v. 67, p. 801-7, 2008.

MANAVALAN, J. S. et al. Aging and autoimmunity. In: ROSE, N. R., MACKAY, I. R., eds. **The autoimmune diseases**. San Diego: Academic Press; 1998. p. 783–94.

MARQUES, J. F. N. et al. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. **Rev Bras Reumatol.**, v.33, n. 5, p. 169-73, 1993.

MARTÍNEZ-CASTRO, E. et al. Rheumatoid arthritis and Sjögren syndrome: special reference to the course time of rheumatoid arthritis. **Med Clin.**, v. 94, p. 655-9, 1990.

MAKRYGIANNAKIS, D. et al. Smoking increases peptidylarginine deiminase 2 enzyme expression in human lungs and increases citrullination in BAL cells. **Ann Rheum Dis.**, v. 67, n. 10, p. 1488-92, 2008.

MATHSSON, L. et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 1, p. 36-45, 2008.

MacGREGOR, A. J. et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. **Arthritis Rheum**, v. 43, p. 30–7, 2000.

MELLEMKJAER, L. et al. Autoimmune disease in individuals and close family members and susceptibility to non-Hodgkin's lymphoma. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 3, p. 657-666, 2008.

MICHOU, I. et al. Associations between genetic factors, tobacco smoking and autoantibodies in familial and sporadic rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 67, n. 4, p. 466-70, 2008a.

MICHOU, L. et al. Prevalence and distribution of autoimmune diseases in 368 rheumatoid arthritis families. **J Rheumatol.**, v. 35, n. 5, p. 1-7, 2008b.

MITTERMAYER, S. et al. A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. **Clin Rheumatol.**, v. 27, p. 77–83, 2008.

MOSCA, M. et al. Occurrence of organ-specific and systemic autoimmune diseases among the first- and second-degree relatives of Caucasian patients with connective tissue diseases: report of data obtained through direct patient interviews. **Clin Rheumatol.**, v. 27, n. 8, p. 1045-8, 2008.

MOTA, L. M. H. et al. Comportamento distinto dos sorotipos do fator reumatoide em avaliação seriada de pacientes com artrite reumatóide inicial. **Rev Bras Reumatol.** [online], v.49, n.3, p. 223-235, 2009.

MONTANO-LOZA, A. et al. Frequency and significance of antibodies to cyclic citrullinated peptide in type 1 autoimmune hepatitis. **Autoimmunity**, v.39, n. 4, p. 341-8, 2006.

NASS, F. R. **Análise sorológica e clínico-laboratorial de auto-anticorpos em familiares de pacientes com doença celíaca.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.75 p.

NELL-DUXNEUNER, V. et al. Autoantibody profiling in patients with very early rheumatoid arthritis - a follow-up study. **Ann Rheum Dis.**, 2009 Jan 19.

NIENHUIS, R. L.; MANDEMA, E. A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis; the antiperinuclear factor. **Ann Rheum Dis.**, n. 23, p. 302 – 5, 1964

NIELEN, M. M. et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 2, p. 380-6, 2004.

NISHIMURA, K. et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. **Ann Intern Med.**, v. 146, n. 11, p. 797 – 808, 2007.

NISHIHARA, R. M. et al. Rheumatoid arthritis and anti-endomysial antibodies. **Acta Reum Port.**, v.32, p. 163-67, 2007.

NISTALA, K.; WEDDERBURN, L. R. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatol (Oxford)*, v. 48, n. 6, p. 602 – 6, 2009.

NOWAK, U. M.; NEWKIRK, M. M. Rheumatoid factors: good or bad for you? **Int Arch Allergy Immunol.**, v. 2, n. 138, p. 180-188, 2005.

OLIVER, A. M.; CLAIR, E. W. S. Rheumatoid arthritis: Treatment and assessment. In: STONE, J.H., CROFFORD, L.J. WHITE, P.H. **Primer on the rheumatic diseases**. 30 ed. New York: Springer, 2008. p. 133-140.

PADYUKOV, L. et al. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 10, p. 3085-92, 2004.

PARADOWSKA, A. et al. The function of interleukin 17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Arch Immunol Ther Exp.**, v. 55, n. 5, p. 329-34, 2007.

PENG, S. L.; CRAFT, J. Antinuclear antibodies. In: Harris ED Jr, editor. **Kelley's Textbook of Rheumatology**. Philadelphia: Elsevier & Saunders, 2005, p. 311-31.

PICARELLI, A. et al. Production of antiendomysium antibodies after in-vitro gliadin challenge of small intestine biopsy samples from patients with celiac disease. **Lancet**, v. 348, n. 9034, p. 1065-67, 1996.

PINHEIRO, G. R. C. Instrumentos de Medida da Atividade da Artrite Reumatóide – Por que e como Empregá-los. **Rev Bras Reumatol.**, v. 47, n.5, p. 362-365, 2007.

PLOTZ, C. M.; SINGER, J. M. The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. **Am J Med.**, v. 21, n. 6, p. 888-92, 1956.

POLANCO, I. Enfermedad celíaca. **Pediatría Integral.**, v. 1, n. 2, p. 124, 1995.

POPE, R. M. Apoptosis as a therapeutic tool in rheumatoid arthritis. **Nat Rev Immunol.**, n. 2, p. 527-535, 2002.

PUOLAKKA, K. et al. Monetary value of lost productivity over a 5-year follow up in early rheumatoid arthritis estimated on the basis of official register data on patients'

sickness absence and gross income: experience from the FIN-RACo Trial. **Ann Rheum Dis.**, v. 65, p. 899-904, 2006.

PRAHALAD, S. et al. Increased prevalence of familial autoimmunity in simplex and multiplex families with juvenile rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 46, n. 7, p. 1851-6, 2002.

PRATT, A. G.; ISAACS, J. D.; MATTEY, D. L. Current concepts in the pathogenesis of early rheumatoid arthritis. **Best Pract Res Clin Rheumatol.**, v. 23, n. 1, p. 37-48, 2009.

PRZYGODZKA, M.; FILIPOWICZ-SOSNOWSKA, A. Prevalence of thyroid diseases and antithyroid antibodies in women with rheumatoid arthritis. **Pol Arch Med Wewn.**, v. 119, n. 1-2, p. 39-43.

RANTAPÄÄ-DAHLQVIST, S. et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 48, n. 10, p. 2741-9, 2003.

RANTAPÄÄ-DAHLQVIST, S. What happens before the onset of rheumatoid arthritis? **Curr Opin Rheumatol.**, v. 21, n. 3, p. 272 – 8, 2009.

REPARON-SCHUIJT, C. C. et al. Secretion of anti-citrulline-containing peptide antibody by B lymphocytes in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 44, n. 1, p. 41-7, 2001.

RIBOLDI, P. et al. Anti-DNA antibodies: a diagnostic and prognostic tool for systemic lupus erythematosus? **Autoimmun.**, v. 38, n. 1, p.39-4, 2005.

RIZZETO, M.; SWANA, G.; DONIACH, D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. **Clin Experim Immunol.**, n. 15, p. 331-344, 1973.

ROJAS-VILLARRAGA, A. et al. Familial disease, the HLA-DRB1 shared epitope and anti-CCP antibodies influence time at appearance of substantial joint damage in rheumatoid arthritis. **J Autoimmun.**, v. 32, n. 1, p. 64-9, 2009.

ROUDIER, J et al.. Susceptibility to rheumatoid arthritis maps to a T-cell epitope shared by the HLA-Dw4 β -1 chain and the Epstein-Barr virus glycoprotein gp110. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 86, p. 5104-08, 1989.

SAAG, K. G. et al. American College of Rheumatology 2008 Recommendations for the Use of Nonbiologic and Biologic Disease-Modifying Antirheumatic Drugs in Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 59, n. 6, p. 762 – 784, 2008.

SACK, K. E.; FYE, K. H. Doenças Reumáticas. In: STITES, D. P.; TERR, A. I.; PARLOW, T. G. **Imunologia Médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 353-370.

SAITO, K.; TANAKA, Y. New biologic and non biologic disease modifying anti-rheumatic drugs for rheumatoid arthritis. **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.**, v. 32, n. 3, p. 149 – 59, 2009.

SANTOS, L.M. et al. Prevalência e valor prognóstico de anticorpos antinucleares em indivíduos idosos. **Rev Bras Reumatol.**, v. 37, p. 323-8, 1997.

SARDJONO, C. T.; MOTTRAM, P. L.; HOGARTH, P. M. The role of FcRIIa as an inflammatory mediator in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Immunol Cell Biol.**, v. 81, p. 374 – 381, 2003.

SCHELLEKENS, G. A. et al. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. **J Clin Invest.**, v. 101, n. 1, p. 273-81, 1998.

SCHETT, G. Review: Immune cells and mediators of inflammatory arthritis. **Autoimmunity**, v. 41, n. 3, p. 224-9, 2008.

SEBBAG, M. et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. **J Clin Invest.**, v. 95, p. 2672 – 9, 1995.

SENOLT, L. et al. Prospective new biological therapies for rheumatoid arthritis. **Autoimmun Rev.**, Março, 2009.

SHINOMIYA, F. et al. Life expectancies of Japanese patients with rheumatoid arthritis: a review of deaths over a 20-year period. **Mod Rheumatol.**, v. 18, n. 2, p. 165-9, 2008.

SHIOZAWA, S.; HAYASHI, S.; TSUKAMOTO, Y. Identification of the gene loci that predispose to rheumatoid arthritis. **Int Immunol.**, v. 10, p. 1891–5, 1998.

SHOELFELD, Y. et al. The mosaic of autoimmunity: prediction, autoantibodies, and therapy in autoimmune diseases—2008. **Isr Med Assoc J**, v. 10, n. 1, p. 13-9, 2008.

SIEGEL, J. L. et al. Association of primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. **J Clin Rheumatol.**, v. 9, n. 6, p. 340-3, 2003.

SILVA, A. F. et al. Valor Diagnóstico do Anticorpo Anti-peptídeo Citrulinado Cíclico na Artrite Reumatóide. **Rev Bras Reumatol.**, v. 46, n.3, p. 174-180, 2006a.

SILVA, A. F. et al. Associação do Anticorpo Anticitrulina e Gravidade a Artrite Reumatóide. **Rev Bras Reumatol**, v. 46, n.3, p. 165-173, 2006b.

SOKKA, T. et al. Women, men, and rheumatoid arthritis: analyses of disease activity, disease characteristics, and treatments in the QUEST-RA study. **Arthritis Res Ther.**, v. 11, p. R7.

SKARE, T. L. et al. Rheumatoid factor and tobacco exposure. **Braz Arch Biol Technol.**, v. 45, n. 2, p. 203-7, 2002.

SOMMER, O. J. et al. Rheumatoid arthritis: a practical guide to state-of-the-art imaging, image interpretation, and clinical implications. **Radiographics**, v. 25, p. 381–398, 2005.

SONG, K. S.; CHOI, J. R. Tissue transglutaminase autoantibodies in patients with IgM rheumatoid factors. **Yonsei Med J.**, v. 45, n. 5, p. 960-2, 2004.

SOY, M. et al. Frequency of rheumatic diseases in patients with autoimmune thyroid disease. **Rheumatol Int.**, v. 27, n. 6, p. :575-7, 2007.

STEUER, A. et al. RF latex and anti-CCP antibodies: a combined strategy for diagnosing RA in primary care? **Rheumatology**, v. 47, n. 3, p. 375-6, 2008.

SUGIU, K. et al. Anti-parietal cell antibody and serum pepsinogen assessment in screening for gastric carcinoma. **Dig Liver Dis.**, v. 5, n. 38, p. 303-307, 2006.

TEHLIRIAN, C.V.; BATHON, J.M. Rheumatoid arthritis: clinical and laboratory manifestations. In: STONE, J.H., CROFFORD, L.J. WHITE, P.H. **Primer on the rheumatic diseases**. 30 ed. New York: Springer, 2008. p. 114-121.

THEIS, P. et al. A broad panel of autoantibodies in patients with Celiac Disease and with Crohn's Disease. **J Clin Gastroenterol.**, doi: 10.1097/MCG.0b013e3181bdeffd, 2009.

TOUSSIROT, E., ROUDIER, J. Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. **Best Pract Res Clin Rheumatol.**, v. 22, n. 5, p. 883-96, 2008.

TUBACH, F. et al. Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective french research axed on tolerance of biotherapies registry. **Arthritis Rheum.**, v. 60, n. 7, p. 1884 – 1894, 2009.

TURESSON C., et al. Extra articular disease manifestation in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. **Ann Rheum Dis.**, v. 62, p. 772-7, 2003.

TURESSON, C.; MATTESON, E. L. Genetics of rheumatoid arthritis. **Mayo Clin Proc.**, v. 81, n. 1, p. 94-101, 2006.

TURESSON, C.; MATTESON, E. L. Vasculitis in rheumatoid arthritis. **Curr Opin Rheumatol.**, v. 21, n. 1, p. 35-40, 2009.

UHLIG, T. et al. Rheumatoid arthritis is milder in the new millennium: Health status in RA patients 1994-2004. **Ann Rheum Dis.**, v.67, n. 12, p. 1710 – 5, 2008.

UTIYAMA, S. R. et al. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. **Dig Dis Sci.**, v. 12, n. 46, p. 2624-2630, 2001.

UTIYAMA, S. R. et al. Serological screening of relatives of celiac disease patients: antiendomysium antibodies, anti-tissue transglutaminase or both? **Arq Gastroenterol.**, v. 44, p. 156-61, 2007.

UTIYAMA, S. R. R. et al. Pesquisa de anticorpos anti-endomísio no laboratório de imunopatologia da UFPR: dez anos de experiência na triagem de doença celíaca em pacientes, grupos de risco e populações / Antiendomysium antibodies evaluation in the laboratory of immunopathology of the UFPR: ten years of experience in the screening of celiac disease in patients, groups at risk and in the general population. **Rev Bras Anal Clin.**, v. 41, n. 1, p. 27-33, 2009.

VAN BOEKEL, M. A., et al. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. **Arthritis Res.**, v. 4, p. 87-93, 2002.

VAN DER CRUYSEN, B. et al. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 64, n. 8, p. 1145 – 9, 2005.

VAN DER HELM-VAN MIL, A. H. et al. An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. **Arthritis Rheum.**, v. 52, p. 2637-2644, 2005.

VAN DER HELM-VAN MIL, A. H. M.; HUIZINGA, T. W.J. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. **Arthritis Res Ther.**, v. 10, v.2, p. 205, 2008.

VAN JAARSVELD, C. H. M. et al. The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. **Clin Exp Rheumatol.**, v. 17, n. 6, p. 689-97, 1999.

VARADÉ, J., et al. Shared epitope and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: relationship with age at onset and duration of disease in rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, v. 36, n. 5, p. 1085-6, 2009.

VERSTEGEN, G. et al. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large community hospital. **Acta Clin Belg.**, v. 64, n. 4, p. 317-23, 2009.

VIS, M. et al. IgM-rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide, and anti-citrullinated human fibrinogen antibodies decrease during treatment with the tumor necrosis factor blocker infliximab in patients with rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, v. 35, n. 3, p. 425-8, 2008.

VISSCHER, P. M., HILL, W. G., WRAY, N. R. Heritability in the genomics era – concepts and misconceptions. **Nat Rev Genet.**, v. 9, p. 255–66, 2008.

VOLTA, U. et al. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. **Dig Dis Sci.**, v. 9, n. 40, p. 1902-1905, 1995.

VOSSENAAR, E. R.; VAN VENROOIJ, W. J. Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther.**, n. 6, p. 107-111, 2004.

VOSSENAAR, E. R. et al. Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. **Arthritis Res Ther.**, v. 6, n. 2, p. R142-50, 2004a.

VOSSENAAR, E. R. et al. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 11, p. 3485 – 94, 2004b.

WALDENBURGER, J.; FIRESTEIN, G.S. Rheumatoid arthritis: epidemiology, pathology and pathogenesis. In: STONE, J.H., CROFFORD, L.J. WHITE, P.H. **Primer on the rheumatic diseases**. 30 ed. New York: Springer, 2008. p. 122-132.

WALLIT, B. et al. Effects of postmenopausal hormone therapy on rheumatoid arthritis: the women's health initiative randomized controlled trials. **Arthritis Rheum.**, v. 59, n. 3, p. 302-10, 2008.

WANG, P. L.; LIOU, L. B.; DUNN, P. Development of rheumatoid arthritis in a patient with pernicious anemia: case report. **Chang Gung Med J.**, v. 24, n. 2, p. 125-9, 2001.

YOUNG A, KODURI G. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. **Best Pract Res Clin Rheumatol.**, v. 21, n. 5, p. 907 – 27, 2007.

WILDER, R. L. et al. Localization in rats of genetic loci regulating susceptibility to experimental erosive arthritis and related autoimmune diseases. **Transplant Proc.**, v. 31, p. 1585–8, 1999.

ZHAO, Y. et al. What can we learn from the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in systemic lupus erythematosus? **Joint Bone Spine.**, 2009 Mar 14.

ZINTZARAS, E. et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of dosage regimens. **Clin Ther.**, v. 30, n. 11, p. 1939-55, 2008.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 –	DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, IDADE, SEXO, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS119
APÊNDICE 2 –	DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS125
APÊNDICE 3 –	DADOS REFERENTES AO GRUPO DE COMPARAÇÃO: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS.....133
APÊNDICE 4 –	DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM AR POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS137
APÊNDICE 5 –	DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS139
APÊNDICE 6 –	MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (CCP \geq 20U)141
APÊNDICE 7 –	MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (FR \geq 30UI/ml)142
APÊNDICE 8 –	MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (CCP \geq 20U e FR \geq 30UI/ml)143

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

APÊNDICE 1 - DADOS REFERENTES AOS PACIENTES: NOME, IDADE, SEXO, IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

conclusão

Nº	NOME	IDADE	SEXO	IID	CCP (U)	FR (UI/ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG	CF	OUTRAS DAI
145	ALKG	38	F	34	7	60	N	N	N	N	N	N	S	I	N
146	LCL	61	F	41	190	480	N	N	N	N	N	N	N	I	SS
147	CC	66	F	66	100	N	N	N	N	N	N	N	N	II	N
148	DTS	59	F	57	44	120	N	N	N	N	N	N	N	II	N
149	NS	54	F	50	107	240U	N	N	N	N	N	N	N	IV	N
150	ACM	33	F	31	46	120	N	N	N	N	N	N	N	I	tireoidite / SS
151	MLFC	65	F	50	230	1920	N	N	N	N	N	N	N	I	tireoidite / SS
152	LH	55	F	49	68	480	N	N	N	N	N	1:320	N	IV	N
153	VMCC	42	F	41	56	N	N	N	N	N	N	N	N	I	N
154	LMB	57	F	46	233	120	N	N	N	N	N	N	N	II	N
155	AR	54	F	45	254	N	N	N	N	N	N	1:160	S	I	N
156	JOV	51	F	38	12	N	N	N	N	N	N	1:80	S	III	N

NOTAS: IDD = idade de início de doença

CCP = anticorpo anti-peptídio cíclico citrulinado

FR = fator reumatóide

AML = anticorpo anti-músculo liso

AMA = anticorpo anti-mitocôndria

LKM = anticorpo anti-microsoma de fígado e rim

CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

EmA-IgA = anticorpo anti-endomísio

FAN = anticorpo anti-nuclear

TBG = tabagismo

CF = classe funcional

DAI = doenças autoimunes

SS = síndrome de Sjögren

N = negativo

S = positivo

F = feminino

M = masculino

APÊNDICE 2 – DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continua

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
1	RRM	F	47	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
2	DF	F	40	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
3	SSH	M	44	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
4	AJK	M	52	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
5	ES	F	36	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
6	NS	F	48	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
7	DS	F	38	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
8	JL	F	15	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
9	OS	F	29	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
10	PLS	F	26	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
11	VAF	F	29	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
12	JAP	F	29	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
13	JPLF	M	48	1º	10	30	N	N	N	N	N	N	S
14	OS	F	47	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
15	AM	F	25	1º	139	60	N	N	N	N	N	N	N
16	MCQL	F	46	1º	13	N	N	N	N	N	N	N	N
17	LBS	F	63	1º	18	N	N	N	N	N	N	N	N
18	JB	F	55	1º	14	N	N	N	N	1:160	N	N	N
19	MO	F	39	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
20	CFO	M	33	1º	8	30	N	N	N	N	N	N	S
21	MFS	F	31	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
22	MAV	F	52	2º	13	N	N	N	N	N	N	N	N
23	JGH	F	10	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
24	JGPH	F	14	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
25	EG	M	30	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
26	ABA	F	49	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
27	ABL	F	53	1º	14	N	N	N	N	N	N	N	S
28	MB	M	60	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
29	LM	M	57	1º	121	N	N	N	N	1:160	N	N	N
30	HRFS	M	16	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
31	JMDBF	M	28	1º	19	N	N	N	N	N	N	N	N
32	JLR	F	51	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
33	ABO	M	32	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
34	VV	F	63	1º	9	N	N	N	N	N	N	1:80	N
35	MRL	F	36	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
36	LBO	M	24	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
37	LM	F	21	1º	13	N	N	N	N	N	N	N	N
38	MAS	F	52	1º	38	N	N	N	N	N	N	N	S
39	LMP	F	23	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
40	EMGJ	F	42	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
41	ARG	M	38	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
42	MIG	F	45	1º	20	30	N	N	N	N	N	N	N
43	ETC	M	7	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
44	TES	F	13	1º	14	N	N	N	N	N	N	N	N
45	TFS	F	16	1º	15	N	N	N	N	N	N	N	N
46	JSF	F	9	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
47	JRG	F	37	1º	11	30	N	N	N	N	N	N	N
48	PRG	F	26	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
49	LTB	F	35	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
50	JCL	M	37	1º	19	N	N	N	N	1:320	N	N	N
51	BCOM	M	14	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
52	AGC	F	11	1º	11	N	N	N	N	N	N	1:80	N
53	ERGS	F	55	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
54	SIPS	F	39	1º	14	N	N	N	N	N	N	N	N
55	MRK	F	56	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
56	JBN	M	31	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
57	WLP	M	40	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
58	ETC	M	11	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
59	RBT	F	34	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
60	MFS	M	45	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
61	FACL	M	13	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
62	JL	F	33	1º	9	30	N	N	N	N	N	N	N
63	JRF	M	34	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
64	DRF	M	37	1º	33	N	N	N	N	N	N	N	N
65	IRF	M	30	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
66	ARF	M	38	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
67	ORF	F	31	1º	232	30	N	N	N	N	N	N	N
68	JAN	M	55	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
69	MS	M	14	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
70	LLM	F	25	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
71	LBW	F	30	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
72	RGB	F	51	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
73	MJBC	F	56	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
74	LTGB	F	73	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
75	JNS	M	44	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
76	VS	M	30	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	S
77	VAS	F	28	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
78	RS	M	36	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
79	DSCP	F	39	1º	10	N	N	N	N	N	N	1:80	N
80	DAGBM	M	28	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
81	VSC	F	32	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
82	LR	M	22	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
83	LAR	M	21	1º	10	N	N	N	N	N	N	1:80	N
84	FR	F	17	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
85	AR	F	17	1º	54	N	N	N	N	N	N	N	N
86	DR	F	17	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
87	LR	M	24	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
88	MSSA	M	26	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
89	MCS	F	65	1º	38	N	N	N	N	N	N	N	S
90	PSS	F	56	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	S
91	EGBG	F	54	1º	12	N	N	N	N	N	N	1:80	N
92	AGB	M	48	1º	9	N	N	N	N	N	N	1:80	N
93	FCB	F	68	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
94	EASC	F	40	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
95	IH	F	16	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
96	CRSL	F	32	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
97	MTV	F	42	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
98	ISCS	F	33	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
99	ETS	F	13	2º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
100	RFS	M	48	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	S
101	SAFS	F	43	1º	10	N	N	N	N	N	1:160	N	S
102	RFS	M	47	1º	8	N	N	1:40	N	N	N	N	S
103	FTG	M	41	1º	10	N	N	N	N	1:80	N	N	S
104	AAAC	M	13	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
105	AWAC	M	24	1º	8	N	N	N	N	N	N	1:80	S
106	RH	F	21	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
107	LIG	M	31	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
108	FLG	M	29	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
109	LL	F	29	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
110	ICM	M	63	2º	8	N	N	N	N	N	N	N	S
111	AGM	F	56	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
112	ATG	M	38	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
113	NMS	F	65	1º	9	N	1:160	N	N	N	N	N	N
114	MCS	M	37	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
115	JP	F	25	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
116	CSR	F	40	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
117	RSPB	M	21	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
118	WSPB	M	30	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
119	PPMS	M	56	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
120	JSC	M	35	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
121	ASC	M	37	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	S
122	BFS	F	49	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	S
123	GFS	M	38	1º	12	N	N	N	N	N	1:40	N	S
124	GRS	M	27	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
125	AVC	M	41	1º	13	N	N	N	N	N	N	N	S
126	MC	F	8	2º	11	30	N	N	N	N	N	N	N
127	AMM	M	31	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
128	RCD	M	43	1º	9	N	N	N	N	N	N	1:80	N
129	IMDG	F	49	1º	9	30	N	N	N	N	N	N	N
130	AMC	F	70	1º	10	30	N	N	N	N	N	N	N
131	JSC	M	31	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	S
132	SAC	F	48	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
133	NP	F	42	1º	234	80	N	N	N	N	N	1:160	S
134	JP	M	37	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
135	MRG	F	46	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
136	MFM	F	46	1º	215	1280	N	N	N	N	N	N	S

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
137	MMS	F	54	1º	8	N	N	N	N	N	N	1:160	N
138	JMLM	M	26	1º	13	N	N	N	N	N	N	1:80	N
139	JDJ	M	26	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	S
140	GSR	F	67	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
141	NCR	M	70	1º	13	N	N	N	N	N	N	N	S
142	MTR	F	44	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
143	VLLM	F	52	2º	14	N	N	N	N	N	N	N	S
144	ML	F	54	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
145	ADN	F	56	1º	16	N	N	N	N	N	N	N	N
146	VRC	F	39	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
147	LFS	M	15	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
148	CHFS	F	34	1º	7	30	N	N	N	N	N	N	N
149	AAS	M	35	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	S
150	SSM	F	48	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	S
151	AFS	F	67	1º	11	N	N	N	N	N	N	1:80	S
152	VAS	M	43	1º	13	N	N	N	N	N	N	N	S
153	CB	F	51	1º	8	30	N	N	N	1:160	N	N	N
154	AL	M	32	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
155	DAN	F	40	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
156	DC	F	26	1º	7	N	N	N	N	N	N	1:80	N
157	JTF	M	55	1º	9	N	N	1:80	N	N	N	N	N
158	NMPM	F	45	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	N
159	ACP	M	72	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
160	ACP	M	49	1º	13	40	N	N	N	N	N	N	N
161	GP	M	47	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	S
162	SMOS	F	38	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
163	NP	M	36	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
164	NP	F	41	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
165	VP	M	72	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
166	OP	F	34	1º	8	30	N	N	N	N	N	N	N
167	CAP	M	33	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
168	VAP	F	32	1º	7	N	N	N	N	N	N	1:80	N
169	OAB	M	44	1º	11	N	N	N	N	N	N	N	N
170	TFLS	F	30	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
171	RS	F	33	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
172	TH	M	16	2º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
173	LRCF	M	15	2º	14	N	N	N	N	N	N	N	N
174	MVRNF	M	25	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
175	JRF	F	17	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
176	MCBG	F	54	1º	10	N	N	N	N	1:160	N	1:160	N
177	JCM	M	30	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
178	JC	F	32	1º	19	N	N	N	N	N	N	N	N
179	TH	F	15	1º	8	N	N	N	N	N	N	1:80	N
180	RS	F	43	2º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
181	AMM	M	33	1º	16	N	N	N	N	N	N	1:80	N
182	CSVb	F	39	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
183	TASR	F	12	2º	7	N	N	N	N	N	N	1:80	N
184	KNSS	F	16	2º	148	N	N	N	N	N	N	N	N
185	TTE	F	32	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
186	RAS	F	33	1º	12	N	N	N	N	N	N	N	S
187	AH	F	91	1º	7	N	N	N	N	N	N	1:80	N
188	LJG	F	39	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
189	CG	F	31	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	S
190	GC	F	27	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	S
191	GCAS	F	23	1º	7	N	N	N	N	N	N	N	N
192	SS	F	18	2º	9	N	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 2 - DADOS REFERENTES AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM AR: NOME, IDADE, SEXO, GRAU DE PARENTESCO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

Nº.	NOME	SEXO	IDADE	GP	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
193	LFS	F	38	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
194	CM	F	15	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
195	BM	F	11	1º	10	N	N	N	N	N	N	N	N
196	POC	M	49	1º	9	N	N	N	N	N	N	N	N
197	NP	F	37	1º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
198	STC	F	20	1º	9	N	N	N	N	1:160	N	N	N
199	GSS	F	26	2º	8	N	N	N	N	N	N	N	N
200	EG	F	33	1º	18	N	N	N	N	N	N	N	N

NOTAS: GP = grau de parentesco

CCP = anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado

FR = fator reumatóide

AML = anticorpo anti-músculo liso

AMA = anticorpo anti-mitocôndria

LKM = anticorpo anti-microsoma de fígado e rim

CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

EmA-IgA = anticorpo anti-endomísio

FAN = anticorpo anti-nuclear

TBG = tabagismo

N = negativo

S = positivo

F = feminino

M = masculino

APÊNDICE 3 – DADOS REFERENTES AO GRUPO DE COMPARAÇÃO: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continua

Nº.	IDADE	SEXO	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN
1	26	F	11	N	N	N	N	N	N	N
2	38	F	10	N	N	N	N	N	N	N
3	40	F	8	N	N	N	N	N	N	N
4	23	F	10	N	N	N	N	N	N	N
5	30	F	8	N	N	N	N	N	N	N
6	31	F	8	N	N	N	N	N	N	N
7	39	F	10	N	N	N	N	N	N	N
8	32	M	14	N	N	N	N	N	N	N
9	33	F	10	N	N	N	N	N	N	N
10	54	M	10	N	N	N	N	N	N	N
11	47	M	8	N	N	N	N	N	N	N
12	27	F	10	N	N	N	N	N	N	N
13	28	F	13	N	N	N	N	N	N	N
14	27	F	9	N	N	N	N	N	N	N
15	24	F	8	N	N	N	N	N	N	N
16	26	F	9	N	N	N	N	N	N	N
17	26	F	9	N	N	N	N	N	N	N
18	33	F	13	N	N	N	N	N	N	N
19	51	F	10	N	N	N	N	N	N	N
20	56	F	10	N	N	N	N	N	N	N
21	30	F	12	120	N	N	N	N	N	N
22	25	M	11	N	N	N	N	N	N	1:160
23	42	F	9	N	N	N	N	N	N	N
24	34	F	7	N	N	N	N	N	N	N
25	37	F	9	N	N	N	N	N	N	N
26	26	F	9	N	N	N	N	N	N	N
27	30	F	19	N	N	N	N	N	N	N
28	29	F	16	60	N	N	N	N	N	N
29	36	F	8	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AO GRUPO DE COMPARAÇÃO: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	IDADE	SEXO	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN
30	28	F	11	N	N	N	N	N	N	N
31	28	F	8	N	N	N	N	N	N	N
32	31	F	8	N	N	N	N	N	N	N
33	32	F	9	N	N	N	N	N	N	N
34	26	F	8	N	N	N	N	N	N	N
35	36	M	10	N	N	N	N	N	N	N
36	29	M	9	N	N	N	N	N	N	N
37	41	F	9	N	N	N	N	N	N	N
38	45	F	10	N	N	N	N	N	N	N
39	40	F	9	N	N	N	N	N	N	N
40	44	M	8	N	N	N	N	N	N	N
41	34	F	8	N	N	N	N	N	N	N
42	24	F	7	N	N	N	N	N	N	N
43	24	F	10	N	N	N	N	N	N	N
44	56	F	8	60	N	N	N	N	N	N
45	64	F	8	N	N	N	N	N	N	N
46	65	F	8	N	N	N	N	N	N	N
47	71	F	10	N	N	N	N	N	N	N
48	70	M	11	N	1:40	N	N	N	N	N
49	37	M	10	N	N	N	N	N	N	N
50	45	F	8	N	N	N	N	N	N	N
51	51	M	8	N	N	N	N	N	N	N
52	42	F	7	N	N	N	N	N	N	N
53	78	F	10	N	N	N	N	N	N	N
54	41	F	8	N	N	N	N	N	N	N
55	61	F	8	N	N	N	N	N	N	N
56	41	F	8	N	N	N	N	N	N	N
57	63	F	8	N	N	N	N	N	N	N
58	49	F	8	N	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AO GRUPO DE COMPARAÇÃO: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS

continuação

Nº.	IDADE	SEXO	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN
59	50	F	8	N	N	N	N	N	N	N
60	55	F	10	N	N	N	N	N	N	1:80
61	50	F	24	N	N	N	N	N	N	N
62	51	F	7	N	N	N	N	N	N	N
63	68	F	8	N	N	N	N	N	N	1:80
64	60	F	7	N	N	N	N	N	N	N
65	40	F	8	N	N	N	N	N	N	N
66	49	F	10	N	N	N	N	N	N	N
67	40	F	8	N	N	N	N	N	N	N
68	52	F	8	N	N	N	N	N	N	N
69	51	F	7	N	N	N	N	N	N	N
70	59	F	10	N	N	N	N	N	N	1:80
71	70	M	7	N	N	N	N	N	N	N
72	51	M	8	N	N	N	N	N	N	N
73	52	F	7	N	N	N	N	N	N	N
74	53	F	7	N	N	N	N	N	N	N
75	54	F	9	N	N	N	N	N	N	N
76	56	F	7	73	N	N	N	N	N	1:320
77	58	F	9	N	N	N	N	N	N	N
78	61	M	16	N	N	N	N	N	N	N
79	61	F	7	N	N	N	N	1:80	N	N
80	62	F	7	N	N	N	N	N	N	N
81	69	F	7	N	N	N	N	N	N	N
82	69	M	7	N	N	N	N	N	N	N
83	70	M	8	N	N	N	N	N	N	N
84	72	F	11	N	N	N	N	N	N	N
85	72	M	10	N	N	N	N	N	N	N
86	73	M	11	N	N	N	N	N	N	1:80
87	75	M	7	69	N	N	N	N	N	N

APÊNDICE 3 - DADOS REFERENTES AO GRUPO DE COMPARAÇÃO: NOME, IDADE, SEXO, ANTICORPO ANTI-PEPTÍDIO CÍCLICO CITRULINADO (ANTI-CCP), FATOR REUMATÓIDE (FR) E OUTROS AUTO-ANTICORPOS conclusão

Nº.	IDADE	SEXO	CCP (U)	FR (UI/ ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN
88	78	F	9	N	N	N	N	N	N	N
89	80	F	7	N	N	N	N	N	N	N
90	81	F	7	N	N	N	N	N	N	N
91	60	F	8	N	N	N	N	N	N	N
92	53	F	10	N	N	N	N	N	N	1:80
93	51	F	8	N	N	N	N	N	N	N
94	50	F	8	N	N	N	N	N	N	N
95	50	F	8	N	N	N	N	N	N	N
96	55	F	8	N	N	N	N	N	N	N
97	51	F	8	N	N	N	N	N	N	N
98	57	F	9	N	N	N	N	N	N	N
99	61	F	8	60	N	N	N	N	N	N
100	59	F	8	N	N	N	N	N	N	N

NOTAS: CCP = anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado
 FR = fator reumatóide
 AML = anticorpo anti-músculo liso
 AMA = anticorpo anti-mitocôndria
 LKM = anticorpo anti-microsoma de fígado e rim
 CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal
 EmA-IgA = anticorpo anti-endomísio
 FAN = anticorpo anti-nuclear
 N = negativo
 F = feminino
 M = masculino

APÊNDICE 4 – DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM AR POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS

continua

Nº	NOME	IDADE	SEXO	IDD	TDD	CCP (U)	FR (UI/ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	CF	TIREOIDITE	SS	NÓDULOS	TBG
1	SB	48	M	45	3	155	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR HOMOGÊNEO 1:160	II	N	N	S	S
4	TBK	80	F	69	11	168	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO GROSSO >1:1280	IV	N	S	N	N
10	BB	42	F	33	9	171	N	N	N	N	1:80	N	N	I	N	-	N	S
15	HSE	42	F	38	4	171	240	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	I	N	N	N	N
16	EPN	51	F	45	6	8	N	N	N	N	1:160	N	N	I	S	-	S	S
17	ESF	44	F	39	5	59	30	N	1:80	N	N	N	CITOPLASMÁTICO PONTILHADO RETICULADO 1:640	I	N	S	S	S
33	ATLF	55	F	55	0	202	60	N	N	N	N	N	PONTILHADO RETICULADO 1:160	I	N	N	N	S
35	LR	60	M	48	12	188	480	N	N	N	N	N	CITOPLASMÁTICO PONTILHADO POLAR 1:160	III	N	N	N	S
40	MLR	37	F	36	1	7	60	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	II	N	N	N	N
50	AGS ¹	66	F	60	6	217	N	N	N	N	N	N	CITOPLASMÁTICO PONTILHADO FINO DENSO 1:80	II	N	S	N	S
67	MS	54	M	47	7	120	240	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO GROSSO RETICULADO 1:320	II	N	N	S	S
68	LFSS	48	F	48	0	248	480	N	1:20	N	N	N	N	I	S	N	N	-
78	AMSF	54	F	40	14	186	480	1:40	N	N	N	N	N	III	N	S	N	-
90	MLG	48	F	32	16	254	480	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	II	N	N	N	S
94	STS	44	F	44	0	221	120	N	N	N	1:80	N	N	I	N	N	N	-
97	JS	50	M	28	22	10	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	III	N	N	N	S
98	TSC	59	F	49	10	208	480	N	N	N	1:320	N	N	IV	N	S	N	N
104	ZHDP	63	F	58	5	221	3840	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	II	N	N	N	N
107	RFC ²	32	F	30	2	7	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	II	N	N	N	-
111	HLM	57	F	54	3	227	480	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	II	N	N	N	S

APÊNDICE 4 - DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM AR POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS

ESPECÍFICOS																		conclusão
Nº	NOME	IDADE	SEXO	IDD	TDD	CCP (U)	FR (UI/ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN (TÍTULO)	CF	TIREOIDITE	SS	NÓDULOS	TBG
120	MIS	57	F	56	1	246	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO PONTOS ISOLADOS 1:80	I	N	N	N	N
122	LGJ	47	F	46	1	31	240	N	N	N	N	N	NUCLEAR HOMOGÊNI	I	N	S	N	N
124	MRB	55	F	54	1	14	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR HOMOGÊNI	II	N	N	N	S
129	RFCS	37	F	30	7	233	480	N	N	N	N	N	CITOPLASMÁTICO PONTILHADO FINO DENSO 1:80	I	N	N	N	S
133	AOC	63	F	58	5	137	60	N	N	N	1:80	N	N	I	N	S	N	N
140	ECS	65	F	50	15	37	120	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO CENTROMÉRICO 1:320	I	N	N	N	N
142	MIR	58	F	51	7	6	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR HOMOGÊNI	I	N	-	N	-
143	ANP	57	F	49	8	30	N	N	N	N	N	N	MISTO: NUCLEAR HOMOGÊNI+PONTILHADO GROSSO 1:320	I	N	N	N	S
152	LH	55	F	49	6	68	480	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO GROSSO 1:320	IV	N	N	N	N
155	AR	54	F	45	9	254	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:160	I	N	N	N	N

NOTA: IDD = idade de início de doença; TDD = tempo de duração da doença; SS = síndrome de Sjögren; CF = classe funcional; TBG = tabagismo

LKM = anticorpo anti-microssoma de fígado e rim

AMA = anticorpo anti-mitocôndria

AML = anticorpo anti-músculo liso

CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

EmA-IgA = anticorpo anti-endomísio

CCP = anticorpo anti-peptídio cíclico citrulinado

FR = fator reumatóide

FAN = anticorpo anti-nuclear

N = negativo; S = positivo

F = feminino; M = masculino

¹ = anti-dsDNA positivo 1:80

² = anti-dsDNA positivo 1:10

APÊNDICE 5 – DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS

continua

Nº	NOME	IDADE	SEXO	GP	CCP (U)	FR (UI/ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
18	JB	55	F	1º	14	N	N	N	N	1:160	N	N	N
29	LM	57	M	1º	121	N	N	N	N	1:160	N	N	N
34	VV	63	F	1º	9	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	S
50	JCL	37	M	1º	19	N	N	N	N	1:320	N	N	N
52	AGC	11	F	1º	11	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO GROSSO 1:80	N
79	DSCP	39	F	1º	10	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTOS ISOLADOS 1:80	N
83	LAR	21	M	1º	10	N	N	N	N	N	N	CITOPLASMÁTICO PONTILHADO FINO DENSO 1:80	N
91	EBG	54	F	1º	12	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	N
92	AGB	48	M	1º	9	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	S
101	SAFS	43	F	1º	10	N	N	N	N	N	1:160	N	S
102	RFS	47	M	1º	8	N	N	1:40	N	N	N	N	S
103	FTG	41	F	1º	10	N	N	N	N	1:80	N	N	S
105	AWAC	24	M	1º	8	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	S
113	NMS	65	F	1º	9	N	1:160	N	N	N	N	N	N
123	GFS	38	M	1º	12	N	N	N	N	N	1:40	N	S
128	RCD	43	M	1º	9	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	N
133	NP	42	F	1º	234	80	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:160	N
137	MMS	54	F	1º	8	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:160	N
138	JMLM	26	M	1º	13	N	N	N	N	N	N	NUCLEOLAR HOMOGÊNIO 1:80	N
151	AFS	67	F	1º	11	N	N	N	N	N	N	NUCLEOLAR HOMOGÊNIO 1:80	N
153	CB	51	F	1º	8	30	N	N	N	1:160	N	N	N
156	DC	26	F	1º	7	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	N
157	JTF	55	M	1º	9	N	N	1:80	N	N	N	N	N
168	VAP	32	F	1º	7	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	N
176	MCBG	54	F	1º	10	N	N	N	N	1:160	N	NUCLEOLAR HOMOGÊNIO 1:160	N
179	TH	15	F	1º	8	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO DENSO 1:80	N
181	AMM	33	M	1º	16	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO GROSSO 1:80	N
183	TASR	12	F	2º	7	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO PLEOMÓRFICO 1:80	N
187	AH	91	F	1º	7	N	N	N	N	N	N	NUCLEAR PONTILHADO FINO 1:80	N

APÊNDICE 5 - DADOS SOROLÓGICOS, CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS FAMILIARES POSITIVOS PARA FAN E AUTO-ANTICORPOS ÓRGÃO-ESPECÍFICOS

Nº	NOME	IDADE	SEXO	GP	CCP (U)	FR (UI/ml)	AML	AMA	LKM	CGP	EmA-IgA	FAN	TBG
198	STC	20	F	1º	9	N	N	N	N	1:160	N	N	N

NOTAS: GP = grau de parentesco

LKM = anticorpo anti-microssoma de fígado e rim

AMA = anticorpo anti-mitocôndria

AML = anticorpo anti-músculo liso

CGP = anticorpo anti-célula gástrica parietal

EmA-IgA = anticorpo anti-endomísio

CCP = anticorpo anti-peptídio cíclico citrulinado

FR = fator reumatóide

FAN = fator anti-nuclear

TBG = tabagismo

N = negativo

S = positivo

F = feminino

M = masculino

APÊNDICE 6 – MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (CCP≥ 20U)

CCP ≥20U	Sexo	Uso de tabaco	Idade de início	Tempo de duração	Classe funcional	Nódulos	Síndrome de Sjögren	Tireoidite
Sexo	1,0000	,2203	-,0819	,0614	,0548	,2866	,0219	-,1495
	p= ---	p=,035	p=,437	p=,561	p=,604	p=,006	p=,836	p=,155
Uso de tabaco	,2203	1,0000	,1341	,0101	-,0229	,0877	-,1371	-,1805
	p=,035	p= ---	p=,202	p=,924	p=,828	p=,406	p=,193	p=,085
Idade de início	-,0819	,1341	1,0000	-,1692	-,0810	-,0834	,0369	,2189
	p=,437	p=,202	p= ---	p=,107	p=,443	p=,429	p=,727	p=,036
Tempo de duração	,0614	,0101	-,1692	1,0000	,2590	-,0038	,0634	-,0600
	p=,561	p=,924	p=,107	p= ---	p=,013	p=,971	p=,549	p=,570
Classe funcional	,0548	-,0229	-,0810	,2590	1,0000	-,0301	-,0970	-,0478
	p=,604	p=,828	p=,443	p=,013	p= ---	p=,776	p=,358	p=,651
Nódulos	,2866	,0877	-,0834	-,0038	-,0301	1,0000	,1352	,1042
	p=,006	p=,406	p=,429	p=,971	p=,776	p= ---	p=,199	p=,323
Síndrome de Sjögren	,0219	-,1371	,0369	,0634	-,0970	,1352	1,0000	,1435
	p=,836	p=,193	p=,727	p=,549	p=,358	p=,199	p= ---	p=,172
Tireoidite	-,1495	-,1805	,2189	-,0600	-,0478	,1042	,1435	1,0000
	p=,155	p=,085	p=,036	p=,570	p=,651	p=,323	p=,172	p= ---

APÊNDICE 7 – MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (FR ≥ 30UI/ml)

FR ≥ 30UI/ml	Sexo	Uso de tabaco	Idade de início	Tempo de duração	Classe funcional	Nódulos	Síndrome de Sjögren	Tireoidite
Sexo	1,0000	,2039	-,1090	,0856	,0634	,2451	,0367	-,1522
	p= ---	p=,064	p=,327	p=,442	p=,569	p=,026	p=,742	p=,170
Uso de tabaco	,2039	1,0000	,1091	,0538	,0052	,0920	-,0541	-,1662
	p=,064	p= ---	p=,326	p=,629	p=,963	p=,408	p=,627	p=,133
Idade de início	-,1090	,1091	1,0000	-,1131	-,0152	-,0506	,1207	,1563
	p=,327	p=,326	p= ---	p=,309	p=,892	p=,649	p=,277	p=,158
Tempo de duração	,0856	,0538	-,1131	1,0000	,2411	-,0984	,0341	-,0483
	p=,442	p=,629	p=,309	p= ---	p=,028	p=,376	p=,759	p=,664
Classe funcional	,0634	,0052	-,0152	,2411	1,0000	-,0862	-,1154	-,0447
	p=,569	p=,963	p=,892	p=,028	p= ---	p=,438	p=,299	p=,688
Nódulos	,2451	,0920	-,0506	-,0984	-,0862	1,0000	,3034	,1540
	p=,026	p=,408	p=,649	p=,376	p=,438	p= ---	p=,005	p=,164
Síndrome de Sjögren	,0367	-,0541	,1207	,0341	-,1154	,3034	1,0000	,1733
	p=,742	p=,627	p=,277	p=,759	p=,299	p=,005	p= ---	p=,117
Tireoidite	-,1522	-,1662	,1563	-,0483	-,0447	,1540	,1733	1,0000
	p=,170	p=,133	p=,158	p=,664	p=,688	p=,164	p=,117	p= ---

APÊNDICE 8 – MATRIZES DE CORRELAÇÃO UTILIZADAS NAS ANÁLISES MULTIVARIADAS (CCP≥ 20U e FR≥ 30UI/ml)

CCP≥20U e FR≥30UI/ml	Sexo	Uso de tabaco	Idade de início	Tempo de duração	Classe funcional	Nódulos	Síndrome de Sjögren	Tireoidite
Sexo	1,0000	,2245	-,0921	,0675	,0556	,2735	,0269	-,1712
	p= ---	p=,053	p=,432	p=,565	p=,636	p=,018	p=,819	p=,142
Uso de tabaco	,2245	1,0000	,1086	,0311	-,0405	,0519	-,1105	-,1699
	p=,053	p= ---	p=,354	p=,791	p=,730	p=,658	p=,345	p=,145
Idade de início	-,0921	,1086	1,0000	-,0956	-,0056	-,0623	,1394	,1760
	p=,432	p=,354	p= ---	p=,414	p=,962	p=,596	p=,233	p=,131
Tempo de duração	,0675	,0311	-,0956	1,0000	,2367	-,1173	,0048	-,0693
	p=,565	p=,791	p=,414	p= ---	p=,041	p=,316	p=,967	p=,554
Classe funcional	,0556	-,0405	-,0056	,2367	1,0000	-,1139	-,1548	-,0548
	p=,636	p=,730	p=,962	p=,041	p= ---	p=,331	p=,185	p=,641
Nódulos	,2735	,0519	-,0623	-,1173	-,1139	1,0000	,2705	,1735
	p=,018	p=,658	p=,596	p=,316	p=,331	p= ---	p=,019	p=,137
Síndrome de Sjögren	,0269	-,1105	,1394	,0048	-,1548	,2705	1,0000	,1718
	p=,819	p=,345	p=,233	p=,967	p=,185	p=,019	p= ---	p=,140
Tireoidite	-,1712	-,1699	,1760	-,0693	-,0548	,1735	,1718	1,0000
	p=,142	p=,145	p=,131	p=,554	p=,641	p=,137	p=,140	p= ---

ANEXOS

ANEXO 1 -	CARTAS DO COMITÊ DE ÉTICA DA FACULDADE EVANGÉLICA DO PARANÁ E DIREÇÃO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS-UFPR.....	145
ANEXO 2 -	QUESTIONÁRIO APLICADO AOS FAMILIARES	1467

ANEXO 1 - CARTAS DO COMITÊ DE ÉTICA DA FACULDADE EVANGÉLICA DO
PARANÁ E DIREÇÃO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS-UFPR

*Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade
Evangélica Beneficente de Curitiba*

Rua Padre Anchieta, 2770
80730-000 Curitiba - PR
Fone: 41 3240-5570
Fax: 41 3240-5517

Curitiba, 23 de maio de 2007.

Thelma L. Skare
Shirley Ramos da Rosa Utiyama

Prezadas Colegas,

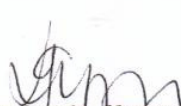
Comunicamos a V. Sa. que, em reunião ordinária do dia 22 de maio de 2007, foi aprovado o projeto de pesquisa intitulado **"AUTOIMUNIDADE EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE E FAMILIARES"** protocolado neste comitê sob o número **2171/07** em 11 de abril de 2007.

Prevê a legislação que toda a documentação do projeto poderá, a qualquer momento, ser solicitada para inspeção por parte dos órgãos federais; desta forma, manterá o Comitê arquivo detalhado de cada projeto, arquivando em pasta individual o projeto inicial e relatórios de acompanhamento.

Para o projeto de V. Sa., solicitamos que dê ciência aos seus colaboradores da obrigação de, a cada seis meses a partir da data de hoje, encaminhar a este comitê relatório detalhado do andamento do projeto.

Relatórios previstos para: **20/11/2007**

Atenciosamente,


Carmen Paredes Marcondes Ribas
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da
Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba



HOSPITAL DE CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DECLARAÇÃO

Declaro que conheço e concordo com o desenvolvimento da pesquisa intitulada "***Estudo da Autoimunidade em pacientes com artrite Reumatóide e Familiares***" no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, o qual será desenvolvido pela Profa. Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama.

Ressalta-se a obrigatoriedade por parte da Pesquisadora em apresentar a esta Instituição no decorrer da pesquisa, relatório anual, bem como ao seu encerramento comunicar-nos oficialmente de posse da publicação.

Curitiba, 28 de junho de 2007.

Profa. Dra. Heda Maria B. dos S. Amarante
Diretora de Corpo Clínico
do Hospital de Clínicas da UFPR

Ciente do Pesquisador:

Carimbo e assinatura

ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO APLICADO AOS FAMILIARES

Nome.....

Nome do paciente com AR.....

Grau de parentesco: () 1º () 2º

Dados demográficos:

Idade..... Sexo () F () M Estado civil.....

Etnia : () branca () índio () amarela () afro fone.....

Tabagista () sim () não () ex Etilista () sim () não () ex

Anamnese dirigida:

Dor nas juntas () S () N Se sim, em quantas.....

Se sim: Incha também ? () S () N

Algum problema com a pele ? () S () N Se sim, qual ?.....

Dor de barriga/ flatulência () S () N

Diarréia () S () N

Intestino preso () S () N

Perda de peso () S () N

Ganho de peso () S () N

Amarelão na pele (icterícia) () S () N

Problemas de fígado () S () N

Doença de tireóide () S () N

Sonolência exagerada () S () N

Queda de cabelo () S () N

Anemia () S () N

Abortos () S () N quantos..... semestre:.....

Osteoporose ou fratura anterior () S () N

Doenças anteriores:

Medicamentos em uso: